

(19) 日本国特許庁 (J P)

## (12) 公表特許公報 (A)

(11) 特許出願公表番号

特表2003-509465

(P2003-509465A)

(43) 公表日 平成15年3月11日 (2003.3.11)

(51) Int.Cl. <sup>7</sup>	識別記号	F I	テーマコード* (参考)
A 6 1 K 38/00		A 6 1 K 9/127	4 C 0 7 6
9/127		47/44	4 C 0 8 4
47/44		47/48	4 H 0 4 5
47/48		A 6 1 P 1/16	
A 6 1 P 1/16		31/14	
審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 253 頁) 最終頁に続く			

(21) 出願番号	特願2001-524613(P2001-524613)	(71) 出願人	エビミュン, インコーポレイテッド
(86) (22) 出願日	平成12年7月19日 (2000.7.19)		アメリカ合衆国 カリフォルニア 92121,
(85) 翻訳文提出日	平成14年1月18日 (2002.1.18)		サン ディエゴ, ナンシー リッジ
(86) 国際出願番号	P C T / U S 0 0 / 1 9 7 7 4		ドライブ 5820, スイート 100
(87) 国際公開番号	W O 0 1 / 0 2 1 1 8 9	(72) 発明者	セッテ, アレッサンドロ
(87) 国際公開日	平成13年3月29日 (2001.3.29)		アメリカ合衆国 カリフォルニア 92037,
(31) 優先権主張番号	0 9 / 3 5 7, 7 3 7		ラ ホヤ, リンダ ローザ アベニュー 5551
(32) 優先日	平成11年7月19日 (1999.7.19)	(72) 発明者	シドニー, ジョン
(33) 優先権主張国	米国 (U S)		アメリカ合衆国 カリフォルニア 92130,
			サン ディエゴ, コーテ デ ラ シエナ 4218
		(74) 代理人	弁理士 大塩 竹志
			最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 ペプチドおよび核酸組成物を使用する、C型肝炎ウイルスに対する細胞性免疫応答の誘導

## (57) 【要約】

本発明は、HCVエピトープを同定および調製するために、ならびにHCVに対して指向されるエピトープベースのワクチンを開発するために、抗原がT細胞によって認識される機構についての本発明者らの知識を使用する。より詳細には、本出願は、薬学的組成物、ならびにHCV感染の予防および処置における使用の方法についての本発明者らの発見を伝達する。本発明はまた、既知のHLA型を有する患者におけるHCVへの免疫応答をモニタリングまたは評価するための方法を提供する。

## 【特許請求の範囲】

【請求項1】 組成物であって、以下：

## 【化1】

FLLADARV,	YLVAYQATV,	RLIVFPDLGV,
DLMGYPLV,	WMNRLIAFA,	VLVGGVLAA,
HMWNFISGI,	ILAGYGAGV,	YLLPRRGPR,
LLFLLADA,	YLVTRHADV,	KTSEERSQPR,
RLGVRATRK,	QLFTFSPRR,	RMVVGVEHR,
LIFCHSKKK,	GVAGALVAFK,	VAGALVAFK,
TLGFGAYMSK,	LPGCSFSIF,	LSAFSLHSY,
CTCGSSDLY,	FWAKHMWNF,	SKGWRLAPITAYAQ,
AAAYAAQGYKVLVLNPSVAAT,	GRHLIFCHSKKKCDE,	VVVVATDALMTGYTG,
TVDFSLDPTFTIETT,	NFISGIQYLAGLSTLPNPA,	
GEGAVQWMNRLIAFASRGNHV,	GSSYGFQYSPGQORVE,	ASCLRKLGVPPLRVW,
および LTCGFADLMGY.		

からなる群から選択されるアミノ酸配列からなる、調製されたC型肝炎ウイルス(HCV) エピトープを含む、組成物。

【請求項2】 請求項1に記載の群から選択される2つのエピトープをさらに含む、請求項1に記載の組成物。

【請求項3】 請求項1に記載の群から選択される3つのエピトープをさらに含む、請求項2に記載の組成物。

【請求項4】 請求項1に記載の組成物であって、ここで、該組成物は、以下：

## 【化2】

LTDPSHITA,  
LADGGCSGGAY, RMILMTHFF, VMGSSYGF, FWAKHMWNFI, LLFNILGGWV,  
IPFYGKAI, および VGIYLLPNR.

からなる群から選択されるCTL エピトープをさらに含む、組成物。

【請求項5】 前記組成物が、H T L エピトープをさらに含む、請求項1に記載の組成物。

【請求項6】 前記H T L エピトープが、汎D R 結合分子である、請求項5に記載の組成物。

【請求項7】 前記エピトープが、リボソーム上またはリボソーム内にある、請求項1に記載の組成物。

【請求項8】 前記ペプチドが脂質に結合される、請求項1に記載の組成物。

【請求項9】 前記エピトープが、H L A 重鎖、 $\beta$  2 -ミクログロブリン、およびストレパビジン複合体に結合され、それによってテトラマーが形成される、請求項1に記載の組成物。

【請求項10】 前記エピトープが、抗原提示細胞上のH L A 分子に結合される、請求項1に記載の組成物。

【請求項11】 前記抗原提示細胞が樹状細胞である、請求項10に記載の組成物。

【請求項12】 前記組成物が薬学的賦形剤をさらに含む、請求項1に記載の組成物。

【請求項13】 前記エピトープがさらに単位用量形態である、請求項1に記載の組成物。

【請求項14】 組成物であって、以下：

【化3】

FLLADARV,	YLVAYQATV,	RLIVFPDLGV,
DLMGYPLV,	WMNRLIAFA,	VLVGGVLAA,
HMWNFISGI,	ILAGYGAGV,	YLLPRRGPR,
LLFLLADA,	YLVTRHADV,	KTSESRQPR,
RLGVRATRK,	QLFTFSRR,	RMVVGVEHR,
LIFCHSKKK,	GVAGALVAFK,	VAGALVAFK,
TLGFGAYMSK,	LPGCSFSIF,	LSAFSLHSY,
CTCGSSDLY,	FWAKHMWNF,	SKGWRLAPITAYAQ,
AAAYAAQGYKVLVLPNSVAAT,	GRHLIFCHSKKKCDE,	VVVVATDALMTGYTG,
TVDFSLDPTFTIETT,	NFISGIQYLAGLSTLPGNPA,	
GEGAVQWMNRLIAFASRGNHV,	GSSYGFQYSPGQRE,	ASCLRKLGVPLRVW,
および LTCGFADLMGY.		

からなる群から選択される少なくとも2つのC型肝炎ウイルス（HCV）ペプチドエピトープを含む、250アミノ酸残基未満の調製されたペプチドを含む、組成物。

【請求項15】 少なくとも2つのエピトープが、スペーサーを介して連結される、請求項14に記載の組成物。

【請求項16】 第3のエピトープをさらに含む、請求項14に記載の組成物。

【請求項17】 請求項16に記載の組成物であって、ここで前記第3のエピトープが、以下：

【化4】

LTDPSHITA, LADGGCSGGAY, RMILMTHFF,  
VMGSSYGF, FWAKHMWNFI, LLFNILGGWV, IPFYGKAI, および VGIYLLPNR.

からなる群から選択される、組成物。

【請求項18】 HTLエピトープである第3のエピトープをさらに含む、請求項16に記載の組成物。

【請求項19】 前記HTLエピトープが汎用DR結合分子である、請求項

18に記載の組成物。

【請求項20】 前記ペプチドが、リボソーム上またはリボソーム内にある、請求項14に記載の組成物。

【請求項21】 前記ペプチドが脂質に結合される、請求項14に記載の組成物。

【請求項22】 前記ペプチドが、請求項14に記載の群のうちの少なくとも3つのエピトープをさらに含む、請求項14に記載の組成物。

【請求項23】 前記ペプチドが、請求項14に記載の群のうちの少なくとも4つのエピトープをさらに含む、請求項14に記載の組成物。

【請求項24】 前記ペプチドが、請求項14に記載の群のうちの少なくとも5つのエピトープをさらに含む、請求項14に記載の組成物。

【請求項25】 前記ペプチドが、請求項14に記載の群のうちの少なくとも6つのエピトープをさらに含む、請求項14に記載の組成物。

【請求項26】 前記組成物が薬学的賦形剤をさらに含む、請求項14に記載の組成物。

【請求項27】 前記エピトープがさらに単位用量形態である、請求項14に記載の組成物。

【請求項28】 少なくとも6つの調製されたHCVエピトープを含む組成物であって、該HCVエピトープの各々が、以下：

【化5】

FLLADARV,	YLVAYQATV,	RLIVFPDLGV,
DLMGYIPLV,	WMNRLIAFA,	VLVGGVLAA,
HMWNFISGI,	ILAGYGAGV,	YLLPRRGPR,
LLFLLADA,	YLVTRHADV,	KTSEERSQPR,
RLGVRATRK,	QLFTFSPRR,	RMVYGGVEHR,
LIFCHSKKK,	GVAGALVAFK,	VAGALVAFK,
TLGFGAYMSK,	LPGCSFSIF,	LSAFSLHSY,
CTCGSSDLY,	FWAKHMWNF,	SKGWRLAPITAYAQ,
AAYAAQGYKVLVLNPSVAAT,	GRHLIFCHSKKKCDE,	VVVVATDALMTGYTG,
TVDFSLDPTFTIETT,	NFISGIQYLAGLSTLPGNPA,	
GEGAVQWMNRLIAFASRGNHV,	GSSYGFQYSPGQORVE,	ASCLRKLGVPLRVW,
あわい LTCGFADLMGY.		

からなる群から選択されるアミノ酸からなる、組成物。

【請求項29】 請求項28に記載の組成物であって、以下：

【化6】

.LTDPSHITA, LADGGCSGGAY,  
RMILMTHFF, VMGSSYGF, FWAKHMWNFI, LLFNILGGWV, IPFYGKAI, あわい  
VGIYLLPNR.

からなる群から選択される少なくとも1つのエピトープをさらに含む、組成物。

**【発明の詳細な説明】****【0001】**

(連邦政府によって援助された研究および開発)

本発明は、一部、国立衛生研究所の助成の下で米国政府によって資金援助された。米国政府は、本発明の特定の権利を有する。

**【0002】**

(索引)

I. 発明の背景

II. 発明の要旨

III. 図面の簡単な説明

IV. 発明の詳細な説明

A. 定義

B. CTL応答およびHTL応答の刺激

C. HLA分子に対するペプチドエピトープの結合親和性

D. ペプチドエピトープ結合モチーフおよびスーパーモチーフ (Super motif)

1. HLA-A1スーパーモチーフ

2. HLA-A2スーパーモチーフ

3. HLA-A3スーパーモチーフ

4. HLA-A24スーパーモチーフ

5. HLA-B7スーパーモチーフ

6. HLA-B27スーパーモチーフ

7. HLA-B44スーパーモチーフ

8. HLA-B58スーパーモチーフ

9. HLA-B62スーパーモチーフ

10. HLA-A1モチーフ

11. HLA-A2.1モチーフ

12. HLA-A3モチーフ

13. HLA-A11モチーフ

14. HLA-A24モチーフ

15. HLA-DR-1-4-7スーパーモチーフ

16. HLA-DR3モチーフ

E. ワクチンの増大する集団適用範囲

F. 免疫応答刺激ペプチドエピトープアナログ

G. スーパーモチーフまたはモチーフを含有するエピトープについての、  
疾患関連抗原由来のタンパク質配列のコンピュータスクリーニング

H. ペプチドエピトープの調製

I. T細胞応答を検出するためのアッセイ

J. 免疫応答を評価するためのペプチドエピトープの使用

K. ワクチン組成物

1. ミニ遺伝子ワクチン

2. CTLペプチドとヘルパーペプチドとの組合わせ

L. 治療目的または予防目的のためのワクチンの投与

M. キット

V. 実施例

VI. 特許請求の範囲

VII. 要約。

【0003】

(I. 発明の背景)

C型肝炎ウイルス(HCV)感染は、世界的なヒトの健康上の問題であり、米国単独で毎年新たに約150,000件の報告事例がある。HCVは、一本鎖RNAウイルスであり、そして輸血後および移植後の非A型、非B型の肝炎のほとんどの場合に同定される病因因子であり、そして急性散発性肝炎の共通の原因である(Chooら、Science 244:359, 1989; Kuoら、Science 244:362, 1989; およびAlterら、Current Perspective in Hepatology, p. 83, 1989)。HCVに感染した患者の50%より多くが、慢性的感染となり、そしてそのうち20%が20年以内に肝硬変を発症することが推定される(Davisら



、New Engl. J. Med. 321:1501, 1989; Alterら、Current Perspective in Hepatology, p. 83, 1989; Alterら、New Engl. J. Med. 327:1899, 1992; および Dienstag, J. L. Gastroenterology 85:430, 1983)。さらに、HCV感染の処置に利用可能な唯一の治療は、インターフェロン- $\alpha$ である。ほとんどの患者は非応答性であるが、応答者の間では、処置の停止の6~12ヶ月以内の高い再発率が存在する (Liangら、J. Med. Virol. 40:69, 1993)。リバビロン (ribavirin) (多くのRNAウイルスおよびDNAウイルスに対して広い範囲の活性を有するグアノシンアナログ) は、インターフェロン- $\alpha$ と組合わせて使用される場合、臨床試行において、慢性HCV感染に対して有効であることが示されてきた (例えば、Poynardら、Lancet 352:1426-1432, 1998; Reichardら、Lancet 351:83-87, 1998を参照のこと)。しかし、応答速度はまだはるかに50%未満である。

#### 【0004】

ウイルス特異的な、ヒト白血球抗原 (HLA) クラスI制限の細胞傷害性Tリンパ球 (CTL) は、インビボのウイルス感染の防止およびクリアランスにおいて主要な役割を果たすことが公知である (Oldstoneら、Nature 321:239, 1989; Jamiesonら、J. Virol. 61:3930, 1987; Yapら、Nature 273:238, 1978; Lukacherら、J. Exp. Med. 160:814, 1994; McMichaelら、N. Engl. J. Med. 309:13, 1983; Sethiら、J. Gen. Virol. 64:443, 1983; Watariら、J. Exp. Med. 165:459, 1987; Yasukawaraら、J. Immunol. 143:2051, 1989; Tiggesら、J. Virol. 66:1622, 1993; Reddenhaseら、J. Virol. 55:263, 1985; Quinnanら、N. Engl. J. Med. 307:6, 1982)。HLAクラスI分子は、ほとんど全ての有核細胞の表面上で発現する

。抗原の細胞内プロセッシングに続いて、抗原由来のエピトープは、このような細胞の表面上のHLAクラスIの分子との複合体として提示される。CTLは、ペプチド-HLAクラスI複合体を認識し、次いでこれは、CTLによって直接的にか、そして／またはウイルスの複製を阻害する非破壊的機構（例えば、インターフェロンの産生）の活性化を介して、HLA-ペプチド複合体を有する細胞の破壊をもたらす。

#### 【0005】

HCV感染で観察される異種免疫応答を考慮すると、複数のHCVエピトープに対して同時に指向される多重特異的な細胞性免疫応答の誘導は、HCVに対する有効なワクチンの開発のために重要であると思われる。しかし、HCV感染を清澄する患者に見られる応答に対応する免疫応答を誘発する、ワクチンの実施形態を確立する必要性が存在する。

#### 【0006】

この節において提供される情報は、本出願の出願日のこの分野の現在理解されている状況として開示されることが意図される。本出願の優先日の後に作製された情報が、この節に含まれる。従って、この節の情報は、いずれにしても本発明の優先日を線引きするようには意図されない。

#### 【0007】

##### （II．発明の要旨）

本発明は、例えば、HCVに対して指向されるエピトープベースのワクチンを開発するために、抗原がT細胞に認識される機構についての本発明者らの知識を適用する。より詳細には、本出願は、特定のエピトープ薬学的組成物ならびにHCV感染の防止および処置における使用方法についての、本発明者らの発見を伝達する。

#### 【0008】

適切な技術の開発の際に、エピトープベースのワクチンの使用は、特に、ワクチン組成物における抗原全体の使用と比較したときに、現在のワクチンを超えたいくつかの利点を有する。抗原全体に対する免疫応答は、抗原の変域領域に対して大部分が指向され、変異に起因する免疫の逸脱を可能にするという証拠が存在

する。エピトープベースのワクチン中に封入するためのエピトープは、ウイルスまたは腫瘍関連抗原の保存領域から選択され、これによって逸脱変異体の可能性が減少する。さらに、抗原全体に存在し得る免疫抑制性エピトープは、エピトープベースのワクチンの使用で回避され得る。

#### 【0009】

エピトープベースのワクチンアプローチのさらなる利点は、選択されるエピトープ（CTLおよびHTL）を組み合わせる能力であり、そしてさらに、例えば、増大した免疫原性を達成するエピトープの組成を改変する能力である。従って、免疫応答は、適切な場合、標的疾患のために調節され得る。応答の同様の操作は、従来のアプローチを用いては可能ではない。

#### 【0010】

エピトープベースの免疫刺激ワクチンの別の主要な利点は、その安全性である。感染性因子またはタンパク質抗原全体（これは、それ自身の固有の生物学的活性を有し得る）によって生じる、起こり得る病理学的な副作用が、排除される。

#### 【0011】

エピトープベースのワクチンはまた、同じ病原由来の複数の選択された抗原に対する免疫応答を指向し、そしてこれに焦点を合わせる能力を提供する。従って、特定の病原に対する免疫応答における患者間の可変性は、ワクチン組成物中の病原から、複数の抗原由来のエピトープを包含することによって軽減され得る。「病原」は、感染性因子または腫瘍関連分子であり得る。

#### 【0012】

しかし、広範に有効なエピトープベースの免疫療法の開発の最も手強い障壁の1つは、HLA分子の極度の多型性である。現在まで、集団の遺伝的に偏りのない有効な適用範囲は、かなりの複雑さの課題である；このような適用範囲は、各個々のHLA対立遺伝子と対応するHLA分子に特異的であるエピトープが使用されることを必要とし、その結果、民族的に多様な集団を網羅するために実施不可能に多数のエピトープが使用されなければならない。従って、エピトープベースのワクチンにおける使用のために複数のHLA抗原分子によって結合されるペプチドエピトープの必要性が存在する。多数のHLA抗原分子が結合すればする

ほど、ワクチンによる集団適用範囲の幅が大きくなる。

#### 【0013】

さらに、本明細書中でより詳細に記載するように、ペプチド結合特性を調節する（例えば、複数のHLA抗原に結合し得るペプチドが、免疫応答を刺激する親和性で結合するように）必要性が存在する。免疫原性と相関する親和性で1つ以上のHLA対立遺伝子によって制限されたエピトープの同定は、集団適用範囲を通して提供するため、そして集団の多様なセグメントにおける感染を防止または清澄するために十分な効力の応答の誘発を可能にするために重要である。このような応答はまた、エピトープの広範な配列を標的化し得る。本明細書中に開示される技術は、このような好ましい免疫応答について提供される。

#### 【0014】

好ましい実施形態において、本発明のワクチン組成物に包含するためのエピトープは、既知の抗原のタンパク質配列がモチーフを有するエピトープまたはスーパーモチーフを有するエピトープの存在について評価されるプロセスによって選択される。次いで、モチーフを有するエピトープまたはスーパーモチーフを有するエピトープに対応するペプチドは、合成され、そして選択されるモチーフを認識するHLA分子に結合する能力について試験される。中程度または高い親和性（すなわち、HLAクラスI分子について500 nM以下、あるいはHLAクラスII分子について1000 nM以下のIC<sub>50</sub>（またはK<sub>d</sub>値））で結合するこれらのペプチドは、CTLまたはHTL応答を誘導するその能力についてさらに評価される。免疫原性ペプチドエピトープは、ワクチン組成物に包含するために選択される。

#### 【0015】

スーパーモチーフを有するペプチドは、HLAスーパータイプファミリー内の複数の対立遺伝子に結合する能力についてさらに試験され得る。さらに、ペプチドエピトープは、結合親和性および／またはHLAスーパータイプ内の複数の対立遺伝子に結合する能力を改変するためにアナログ化（analogued）され得る。

#### 【0016】

本発明はまた、既知のH L A型を有する患者におけるH C Vへの免疫応答をモニタリングまたは評価するための方法を含む実施形態を含み、この方法は、患者由来のTリンパ球サンプルを、本質的に表V I I ~表X Xまたは表X X I Iに記載されるアミノ酸配列からなるH C Vエピトープ（これは、この患者に存在する少なくとも1つのH L A対立遺伝子の産物に結合する）を含むペプチド組成物と共にインキュベートする工程、およびこのペプチドに結合するTリンパ球の存在を検出する工程を包含する。C T Lペプチドエピトープは、例えばテトラマー複合体を含み得る。

#### 【0017】

本発明に従うペプチドエピトープを定義するための代替的様式は、長さ；一次構造；または荷電のような物理的性質（これらは、特定の対立遺伝子特異的H L A分子または対立遺伝子特異的H L A分子の群への結合と相関する）を列挙することである。ペプチドエピトープを定義するためのさらなる様式は、H L A結合ポケットの物理的特性、またはいくつかの対立遺伝子特異的H L A結合ポケットによって共有される特性（例えば、ポケットの配置および電荷分布）を列挙すること、ならびにペプチドエピトープが、このポケットに一致および結合することを説明することである。

#### 【0018】

以下の議論から明らかなように、他の方法および実施形態もまた意図される。さらに、本明細書中に記載されるいずれかの方法によって生成される新規な合成ペプチドもまた、本発明の一部である。

#### 【0019】

（I I I．図面の簡単な説明）

図1は、平均集団における、H L A－AおよびB分子により結合したH C V候補エピトープの数の関数としての遺伝子型の総頻度のグラフを提供する。

#### 【0020】

図2は、実験モデルのミニ遺伝子構築物中のペプチドエピトープの位置を示す。

#### 【0021】

## (I V. 発明の詳細な説明)

本発明のペプチドエピトープおよび対応する核酸組成物は、CTLまたはHTL応答の生成を刺激することによって、HCVに対する免疫応答を刺激するために有用である。このペプチドエピトープ（ネイティブなHCVアミノ酸配列から直接的または間接的に誘導される）は、HLA分子に結合し得、そしてHCVに対する免疫応答を刺激し得る。HCVおよびその改変体由来の完全なポリタンパク質配列は、Genbankから得られ得る。ペプチドエピトープおよびそれらのアナログはまた、以下に提供される開示から明らかであるように、その後これまで未知のHCVの改変体について発見され得る配列情報から容易に決定され得る。

## 【0022】

本発明のペプチドエピトープは、以下に議論されるように多くの方法において同定されてきた。アナログペプチドを誘導し、そしてHLA分子についての結合活性が、改変された免疫原性を示すペプチドアナログを作製するために特定のアミノ酸残基を改変することによって調節されることもまた、詳細に議論される。さらに、本発明は、種々の遺伝的対立遺伝子によりコードされるHLA分子と相互作用し得るエピトープベースのワクチンがこれまでのワクチンより広い範囲の集団を提供することを可能にする、組成物および組成物の組合わせを提供する。

## 【0023】

## (I V. A. 定義)

本発明は、以下の定義に対する言及とともに、より効果的に理解され得る（定義をアルファベット順に列挙する）。

## 【0024】

「コンピューター」または「コンピューターシステム」は、一般に以下を備える：プロセッサ；少なくとも1つの情報格納／検索装置（例えば、ハードドライブ、ディスクドライブまたはテープドライブのような）；少なくとも1つの入力装置（例えば、キーボード、マウス、タッチスクリーンまたはマイクロフォン）；およびディスプレイ構造。さらに、コンピューターは、ネットワークとつながった通信路を備える。このようなコンピューターは、多かれ少なかれ、上に列挙

したものを含み得る。

【0025】

「交差反応性結合」は、ペプチドが1つより多いHLA分子により結合されることを示す；類義語は、変性結合（degenerate binding）である。

【0026】

「潜在エピトープ」は、単離されたペプチドで免疫されることにより応答を誘発するが、この応答は、このエピトープを含むインタクトな完全なタンパク質が抗原として使用される場合、インビトロで交差反応性でない。

【0027】

「優性エピトープ」は、完全なネイティブな抗原で免疫する際に免疫応答を誘導するエピトープである（例えば、Sercarzら、Annu. Rev. Immunol. 11:729-766, 1993を参照のこと）。このような応答は、単離されたペプチドエピトープとインビトロで交差反応性である。

【0028】

特定のアミノ酸配列に関して、「エピトープ」は、特定の免疫グロブリンによる認識に関与するアミノ酸残基のセット、またはT細胞の状況において、T細胞レセプタータンパク質および／または主要組織適合遺伝子複合体（MHC）レセプターによる認識に必要なアミノ酸残基のセットである。免疫系の状況において、インビボまたはインビトロで、エピトープは、免疫グロブリン、T細胞レセプターまたはHLA分子により認識される部位をともに形成する分子の集団的な特色（例えば、一次ペプチド構造、二次ペプチド構造および三次ペプチド構造、ならびに電荷）である。この開示を通して、エピトープおよびペプチドは、しばしば交換可能に用いられる。

【0029】

本発明のエピトープおよびさらなるアミノ酸を含むタンパク質またはペプチド分子は、なお本発明の範囲内にあることが理解されるべきである。特定の実施形態において、本発明のペプチドの長さに対しては制限がある（さもないと、構築物ではない）。長さが制限された実施形態は、本発明のエピトープを含むタン

パク質／ペプチドがネイティブな配列と100%同一性を有する領域（すなわち、連続した一続きのアミノ酸）を含む場合に起こる。例えば、完全な天然の分子に対する解釈（reading）からエピトープの規定を避けるために、ネイティブなペプチド配列と100%同一性を有する任意の領域の長さに対しては制限がある。従って、本発明のエピトープを含むペプチドおよびネイティブなペプチド配列と100%同一性を有する領域（さもないと、構築物ではない）について、ネイティブな配列に対して100%同一性を有する領域は、一般に以下の長さを有する：600アミノ酸以下、しばしば500アミノ酸以下、しばしば400アミノ酸以下、しばしば250アミノ酸以下、しばしば100アミノ酸以下、しばしば85アミノ酸以下、しばしば75アミノ酸以下、しばしば65アミノ酸以下、およびしばしば50アミノ酸以下。特定の実施形態において、本発明の「エピトープ」は、5アミノ酸に至るまでの任意の増分（49、48、47、46、45、44、43、42、41、40、39、38、37、36、35、34、33、32、31、30、29、28、27、26、25、24、23、22、21、20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5）において、ネイティブなペプチド配列に対して100%同一性を有する51アミノ酸未満の領域を有するペプチドにより含まれる。

#### 【0030】

従って、600アミノ酸より長いペプチドまたはタンパク質配列は、それらがネイティブなペプチド配列と100%同一性を有する600アミノ酸を超える任意の連続する配列を含まない（さもないと、構築物ではない）限り、本発明の範囲内にある。ネイティブな配列に対応する5つ以下の連続する残基を有する任意のペプチドについては、本発明の範囲内に入れるために、そのペプチドの最大長さに対する制限はない。CTLエピトープが、8アミノ酸残基に至るまでの任意の増分において600残基長未満であることは現在好ましい。

#### 【0031】

「ヒト白血球抗原」または「HLA」は、ヒトクラスIまたはクラスIIの主要組織適合遺伝子複合体（MHC）タンパク質である（例えば、Stitesら，IMMUNOLOGY，第8版，Lange Publishing，Los



Altos, CA (1994) を参照のこと)。

#### 【0032】

「HLAスーパータイプまたはファミリー」は、本明細書中で使用される場合、共有されたペプチド結合特異性に基づいて分類されるHLA分子のセットを記載する。特定のアミノ酸モチーフを有するペプチドに対していくらかの類似した結合親和性を共有するHLAクラスI分子は、HLAスーパータイプに分類される。用語HLAスーパーファミリー、HLAスーパータイプファミリー、HLAファミリー、およびHLAxx様スーパータイプ分子（ここで、xxは、特定のHLA型を示す）は、類義語である。

#### 【0033】

本開示全体を通して、結果は「IC<sub>50</sub>」によって表される。IC<sub>50</sub>は、参照ペプチドの結合の50%阻害が観察される、結合アッセイにおけるペプチド濃度である。このアッセイが行われる条件（すなわち、制限されたHLAタンパク質および標識ペプチド濃度）が与えられると、これらの値は、K<sub>d</sub>値に近似する。結合を決定するためのアッセイは、以下に詳細に記載される（例えば、PCT公開WO94/20127およびWO94/03205）。IC<sub>50</sub>値は、アッセイ条件が変化する場合、しばしば劇的に変化し得、そして使用される特定の試薬（例えば、HLAの調製物など）に依存することは注意すべきである。例えば、過剰な濃度のHLA分子は、所定のリガンドの見かけの測定されたIC<sub>50</sub>を増大させる。

#### 【0034】

あるいは、結合は、参照ペプチドに対して表される。特定のアッセイがより感度が高くなるか、またはより感度が低くなる場合、試験されたペプチドのIC<sub>50</sub>はいくらか変化し得るが、参照ペプチドに対する結合は、有意には変化しない。例えば、参照ペプチドのIC<sub>50</sub>が10倍増大する条件下でのアッセイ実施において、試験ペプチドのIC<sub>50</sub>値はまた、約10倍シフトする。従って、曖昧さを回避するために、ペプチドが良好か、中程度か、弱いか、またはネガティブなバインダーである否かの評価は、一般に、標準的なペプチドのIC<sub>50</sub>に対するそのIC<sub>50</sub>に基づく。

## 【0035】

結合はまた、他のアッセイ系を用いて決定され得る。これらのアッセイ系としては、以下を用いるものが挙げられる：生細胞（例えば、C e p p e l l i n i ら, *N a t u r e* 339:392, 1989; C h r i s t n i c k ら, *N a t u r e* 352:67, 1991; B u s c h ら, *I n t. I m m u n o l.* 2:443, 19990; H i l l ら, *J. I m m u n o l.* 147:189, 1991; d e l G u e r c i o ら, *J. I m m u n o l.* 154:685, 1995）、界面活性剤溶解物を用いる無細胞系（例えば、C e r u n d o l o ら, *J. I m m u n o l.* 21:2069, 1991）、固定化された精製MHC（例えば、H i l l ら, *J. I m m u n o l.* 152, 2890, 1994; M a r s h a l l ら, *J. I m m u n o l.* 152:4946, 1994）、E L I S A 系（例えば、R e a y ら, *E M B O J.* 11:2829, 1992）、表面プラズモン共鳴（例えば、K h i l k o ら, *J. B i o l. C h e m.* 268:15425, 1993）；高フラックス可溶性相アッセイ（H a m m e r ら, *J. E x p. M e d.* 180:2353, 1994）、およびクラスI MHC安定化またはアセンブリの測定（例えば、L j u n g g r e n ら, *N a t u r e* 346:476, 1990; S c h u m a c h e r ら, *C e l l* 62:563, 1990; T o w n s e n d ら, *C e l l* 62:285, 1990; P a r k e r ら, *J. I m m u n o l.* 149:1896, 1992）。

## 【0036】

本明細書中で使用される場合、HLAクラスI分子に関する「高親和性」は、50 nM以下のIC<sub>50</sub>またはK<sub>d</sub>値を有する結合として規定される；「中程度の親和性」は、約50 nMと約500 nMとの間のIC<sub>50</sub>またはK<sub>d</sub>値を有する結合である。HLAクラスII分子に対する結合に関する「高親和性」は、100 nM以下のIC<sub>50</sub>またはK<sub>d</sub>値を有する結合として規定される；「中程度の親和性」は、約100 nMと約1000 nMとの間のIC<sub>50</sub>またはK<sub>d</sub>値を有する結合である。

## 【0037】

2つ以上のペプチド配列の状況において、用語「同一」またはパーセント「同

一性」は、比較ウィンドウで最大の対応に関して比較され、そして整列されたとき、配列比較アルゴリズムを用いて、または手動の整列および目視により測定する場合、同じ2つ以上の配列または部分配列、あるいは同じアミノ酸残基の特定の割合を有する2つ以上の配列または部分配列をいう。

#### 【0038】

「免疫原性ペプチド」または「ペプチドエピトープ」は、対立遺伝子特異的モチーフまたはスーパーモチーフを含むペプチドであり、その結果、このペプチドがHLA分子に結合し、そしてCTLおよび/またはHTL応答を誘導する。従って、本発明の免疫原性ペプチドは、適切なHLA分子に結合し得、その後、免疫原性ペプチドが由来する抗原に対するHLA拘束細胞傷害性T細胞またはヘルパーT細胞の応答を誘導し得る。

#### 【0039】

句「単離された」または「生物学的に純粋な」とは、通常は、物質がそのネイティブな形態で見出される場合に、この物質に付随する成分を実質的にまたは本質的に含まない物質をいう。従って、本発明に従って単離されたペプチドは、好ましくは、それらのインサイチュ環境において、ペプチドと通常関連する物質を含まない。「単離された」エピトープとは、ペプチドが由来した抗原またはポリペプチドの配列全体を含まないエピトープをいう。代表的には、「単離された」エピトープは、ネイティブな配列と100%同一性を有する配列を生じるさらなるアミノ酸に結合していない。このネイティブな配列は、このエピトープが由来した腫瘍関連抗原のような配列であり得る。

#### 【0040】

「主要組織適合遺伝子複合体」または「MHC」は、生理学的免疫応答を担う細胞相互作用の制御において役割を果たす遺伝子のクラスターである。ヒトにおいて、MHC複合体は、HLA複合体としても公知である。MHC複合体およびHLA複合体の詳細な記載については、Paul, FUNDAMENTAL IMMUNOLOGY, 第3版, Raven Press, New York, 1993を参照のこと。

#### 【0041】

用語「モチーフ」とは、規定の長さのペプチド（通常は、クラス I HLA モチーフについては約 8 ～約 13 アミノ酸のペプチドおよびクラス II HLA モチーフについては約 6 ～約 25 アミノ酸のペプチド）における残基のパターンをいい、これらのモチーフは、特定の HLA 分子により認識される。ペプチドモチーフは、代表的には、各ヒト HLA 対立遺伝子によりコードされる各タンパク質について異なり、そして一次および二次アンカー残基のパターンが異なる。

【0042】

「ネガティブ結合残基」は、ペプチドエピトープの特定の位置（代表的には一次アンカー位置ではない）に存在した場合、このペプチドの対応する HLA 分子に対するペプチドの結合親和性の減少を生じるアミノ酸である。

【0043】

「非ネイティブ」配列または「構築物」とは、天然において見出されない（「天然に存在しない」）配列をいう。このような配列としては、例えば、脂質化ペプチド、そうでなければ改変されたペプチドおよびネイティブなタンパク質配列において連続していないエピトープを含むポリエピトープ組成物が挙げられる。

【0044】

用語「ペプチド」は、本明細書中で「オリゴペプチド」と互換的に使用され、代表的には、隣接するアミノ酸の  $\alpha$ -アミノ基とカルボキシル基との間のペプチド結合によって互いに連結された一連の残基（代表的には、L-アミノ酸）を意味する。本発明の好ましい CTL 誘導ペプチドは、長さが 13 残基以下であり、通常、約 8 残基と約 11 残基との間で構成され、好ましくは 9 または 10 残基である。好ましい HTL 誘導オリゴペプチドは、長さが約 50 残基未満であり、そして通常、約 6 残基と約 30 残基との間で構成され、より通常は、約 12 残基と約 25 残基との間で構成され、そしてしばしば、約 15 残基と約 20 残基との間で構成される。

【0045】

「薬学的に受容可能な」とは、一般に、非毒性の、不活性かつ／または生理学的に適合性の組成物をいう。

【0046】

「薬学的賦形剤」は、アジュバント、キャリア、pH調節剤および緩衝化剤、張度調節剤、湿潤剤、防腐剤などのような物質を含む。

【0047】

「一次アンカー残基」は、免疫原性ペプチドとHLA分子との間の接触点を提供すると理解されているペプチド配列に沿った特定の位置でのアミノ酸である。規定された長さのペプチド内の1～3つ（通常、2つ）の一次アンカー残基は、一般に、免疫原性ペプチドについて「モチーフ」を規定する。これらの残基は、HLA分子のペプチド結合溝と最近接で適合し、その側鎖は、結合溝自体の特定のポケットに埋め込まれていることが理解される。1つの実施形態において、一次アンカー残基は、本発明に従う9残基のペプチドエピトープの二位（アミノ末端位置から）およびカルボキシ末端位置に位置する。各モチーフおよびスーパーモチーフの一次アンカー位置は、表1に示される。例えば、アナログペプチドは、これらの一次アンカー位置における特定の残基の存在または非存在を変更することによって作製され得る。そのようなアナログは、特定のモチーフまたはスーパーモチーフを含むペプチドの結合親和性を調節するために使用される。

【0048】

「不規則な認識 (promiscuous recognition)」は、異なるペプチドが種々のHLA分子の状況において同じT細胞クローンにより認識されることである。不規則な認識または結合は、交差反応性結合と類似である。

【0049】

「防御免疫応答」または「治療免疫応答」とは、感染因子または腫瘍抗原由来の抗原に対するCTLおよび／またはHTL応答をいう。この応答は、疾患症状または進行を予防するか、または少なくとも部分的に停止する。この免疫応答はまた、ヘルパーT細胞の刺激により促進される抗体応答を含み得る。

【0050】

用語「残基」とは、アミド結合またはアミド結合模倣物によってオリゴペプチド中に取り込まれているアミノ酸またはアミノ酸模倣物をいう。

【0051】

「二次アンカー残基」は、ペプチドにおける一次アンカー位置以外の位置のアミノ酸であり、これは、ペプチド結合に影響し得る。二次アンカー残基は、1つの位置におけるアミノ酸のランダムな分布によって予測される結合したペプチドの中で有意により高い頻度で生じる。この二次アンカー残基は、「二次アンカー位置」にて生じるといわれる。二次アンカー残基は、高い親和性結合ペプチドまたは中程度の親和性結合ペプチドの中で高い頻度で存在する残基と同定され得るか、あるいは高い親和性結合または中程度の親和性結合で会合する他の残基と同定され得る。例えば、アナログペプチドは、これらの二次アンカー位置における特定の残基の存在または非存在を変更することによって作製され得る。そのようなアナログは、特定のモチーフまたはスーパーモチーフを含むペプチドの結合親和性を精密に調節するために使用される。

#### 【0052】

「亜優性エピトープ」は、エピトープを含むが、単離されたペプチドで免疫することによって応答が得られ得る完全な抗原で免疫した際に、ほとんどまたは全く応答を引き起こさないエピトープである。そしてこの応答（潜在エピトープの場合とは異なる）は、完全なタンパク質を用いて、インビトロまたはインビボでの応答を呼び戻す場合に検出される。

#### 【0053】

「スーパーモチーフ」は、2つ以上のHLA対立遺伝子によりコードされるHLA分子により共有されるペプチド結合特異性である。好ましくは、スーパーモチーフを有するペプチドは、2つ以上のHLA抗原により（本明細書中で規定されるように）高親和性または中程度の親和性で認識される。

#### 【0054】

「合成ペプチド」とは、化学合成または組換えDNA技術のような方法を用いた人工ペプチドをいう。

#### 【0055】

本明細書中で用いられる場合、「ワクチン」は、1つ以上の本発明のペプチドを含む組成物である。本発明に従うワクチンの多くの実施形態が存在する（例えば、1つ以上のペプチドのカクテル；ポリエピトープペプチドにより構成された

本発明の1つ以上のエピトープ；あるいはこのようなペプチドまたはポリペプチドをコードする核酸（例えば、ポリエピトープペプチドをコードするミニ遺伝子）によるもの。「1つ以上のペプチド」は、例えば、少なくとも2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95または100以上の本発明のペプチドを含み得る。このペプチドまたはポリペプチドは、必要に応じて、例えば、脂質化（lipidation）、標的化配列または他の配列の付加によって改変され得る。本発明のHLAクラスI結合ペプチドは、HLAクラスII結合ペプチドと混合されるか、または連結されて、細胞傷害性Tリンパ球およびヘルパーTリンパ球の両方の活性化を促進し得る。ワクチンはまた、ペプチドパルス化抗原提示細胞（例えば、樹状細胞）を含み得る。

#### 【0056】

ペプチド化合物を記載するために用いた名称は、各アミノ酸残基のアミノ基が左（N末端）に、そしてカルボキシル基が右（C末端）に示される従来の慣行に従う。アミノ酸残基位置がペプチドエピトープにおいて言及される場合、それらは、アミノからカルボキシルの方向に番号付けされ、1位は、エピトープ、またはエピトープが一部分であり得るペプチドもしくはタンパク質のアミノ末端に最も近い位置である。本発明の選択された特定の実施形態を示す式において、アミノ末端基およびカルボキシル末端基（特に示されない）は、他に特定されなければ、それらが生理学的pH値において呈する形態にある。アミノ酸構造式において、各残基は、一般に標準的な3文字または1文字表記により示される。アミノ酸残基のL形態は、大文字の1文字記号または最初が大文字の3文字記号により示される。そしてD形態を有するこれらのアミノ酸のD形態は、小文字の1文字記号または小文字の3文字記号により示される。グリシンは、不斉炭素原子を有さず、そして単に「Gly」または「G」と示される。アミノ酸の記号を以下に示す。

#### 【0057】

【表1】

1文字表記	3文字表記	アミノ酸
A	A l a	アラニン
C	C y s	システイン
D	A s p	アスパラギン酸
E	G l u	グルタミン酸
F	P h e	フェニルアラニン
G	G l y	グリシン
H	H i s	ヒスチジン
I	I l e	イソロイシン
K	L y s	リジン
L	L e u	ロイシン
M	M e t	メチオニン
N	A s n	アスパラギン
P	P r o	プロリン
Q	G l n	グルタミン
R	A r g	アルギニン
S	S e r	セリン
T	T h r	スレオニン
V	V a l	バリン
W	T r p	トリプトファン
Y	T y r	チロシン

## ( I V . B . C T L 応答およびH T L 応答の刺激)

T細胞が抗原を認識する機構は、過去十年の間に詳細に示されてきた。免疫系の本発明者らの理解に基づいて、本発明者らは、広範な集団においてH C Vに対する治療的または予防的免疫応答を誘導し得る有効なペプチドエピトープワクチン組成物を開発した。本願組成物の価値および有効性の理解のために、免疫学関連技術の簡単な総説を提供する。

## 【0058】

H L A分子とペプチド抗原の複合体は、H L A拘束T細胞により認識されるリガンドとして働く (B u u s , S . ら, C e l l 47:1071, 1986;



Babbitt, B. P. ら, *Nature* 317:359, 1985; Townsend, A. および Bodmer, H., *Annu. Rev. Immunol.* 7:601, 1989; Germain, R. N., *Annu. Rev. Immunol.* 11:403, 1993)。1つのアミノ酸を置換した抗原アナログおよび内因的に結合した天然にプロセシングされたペプチドの配列決定の研究を通して、HLA抗原分子に対する特異的結合に必要なモチーフに対応する重要な残基が同定され、そして本明細書中に記載され、そして表I、IIおよびIIIに示される（例えば、Southwood ら, *J. Immunol.* 160:3363, 1998; Rammensee ら, *Immunogenetics* 41:178, 1995; Rammensee ら, SYFPEITHI (ウェブを介して以下にアクセスすること：<http://134.2.96.221/scripts/hlaserver.dll/home.htm>) ; Sette, A. および Sidney, J. *Curr. Opin. Immunol.* 10:478, 1998; Engelhard, V. H., *Curr. Opin. Immunol.* 6:13, 1994; Sette, A. および Grey, H. M., *Curr. Opin. Immunol.* 4:79, 1992; Sinigaglia, F. および Hammer, J. *Curr. Biol.* 6:52, 1994; Ruppert ら, *Cell* 74:929-937, 1993; Kondo ら, *J. Immunol.* 155:4307-4312, 1995; Sidney ら, *J. Immunol.* 157:3480-3490, 1996; Sidney ら, *Human Immunol.* 45:79-93, 1996; Sette, A. および Sidney, J. *Immunogenetics* (印刷中), 1999もまた参照のこと)。

#### 【0059】

さらに、HLA-ペプチド複合体のX線結晶解析により、対立遺伝子特異的様式でペプチドリガンドが保有する残基と適応するHLA分子のペプチド結合溝 (peptide binding cleft) 内のポケットが明らかになった；これらの残基は、次に、これらの残基が存在するペプチドのHLA結合能力を決定する（例えば、Madden, D. R. *Annu. Rev. Immunol*

. 13:587, 1995; Smithら, Immunity 4:203, 1996; Fremontら, Immunity 8:305, 1998; Sternら, Structure 2:245, 1994; Jones, E. Y. Curr. Opin. Immunol. 9:75, 1997; Brown, J. H. ら, Nature 364:33, 1993; Guo, H. C. ら, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:8053, 1993; Guo, H. C. ら, Nature 360:364, 1992; Silver, M. L. ら, Nature 360:367, 1992; Matsumura, M. ら, Science 257:927, 1992; Maddenら, Cell 70:1035, 1992; Fremont, D. H. ら, Science 257:919, 1992; Saper, M. A., Bjorkman, P. J. およびWiley, D. C., J. Mol. Biol. 219:277, 1991を参照のこと)。

#### 【0060】

従って、クラスIおよびクラスIIの対立遺伝子特異的HLA結合モチーフ、またはクラスIもしくはクラスIIのスーパーモチーフの規定は、特定のHLA抗原を結合する能力を有するタンパク質内の領域の同定を可能にする。

#### 【0061】

本発明者らは、結合親和性と免疫原性との相関（本明細書中に開示される）が、候補ペプチドを評価する場合に考慮されるべき重要な因子であることを見出した。従って、モチーフ検索とHLA-ペプチド結合アッセイとの組み合わせにより、エピトープベースのワクチンの候補が同定された。それらの結合親和性を決定した後、さらなる確認作業を行って、これらのワクチン候補の中で、集団適用範囲、抗原性および免疫原性の点で好ましい特徴を有するエピトープを選択し得る。

#### 【0062】

種々のストラテジーを利用して、免疫原性を評価し得る。これらのストラテジーとしては、以下が挙げられる：

- 1) 正常個体由来の初代T細胞培養物の評価（例えば、Wentworth,

P. A. ら, Mol. Immunol. 32:603, 1995; Celis, E. ら, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 91:2105, 1994; Tsai, V. ら, J. Immunol. 158:1796, 1997; Kawashima, I. ら, Human Immunol. 59:1, 1998); この手順は、正常被験体由来の末梢血リンパ球 (PBL) を、インビトロで抗原提示細胞の存在下で数週間にわたり試験ペプチドで刺激することを包含する。このペプチドに特異的なT細胞は、この期間に活性化され、そして例えば、ペプチド感作標的細胞に伴う $^{51}\text{Cr}$ 放出アッセイを用いて検出される。

#### 【0063】

2) HLAトランスジェニックマウスの免疫 (例えば, Wentworth, P. A. ら, J. Immunol. 26:97, 1996; Wentworth, P. A. ら, Int. Immunol. 8:651, 1996; Alexander, J. ら, J. Immunol. 159:4753, 1997); この方法において、不完全フロイントアジュバント中のペプチドをHLAトランスジェニックマウスの皮下に投与する。免疫して数週間後に、脾細胞を取り出し、そしてインビトロで約1週間にわたり試験ペプチドの存在下で培養する。ペプチド特異的なT細胞は、例えば、ペプチド感作標的細胞および内因的に生成した抗原を発現する標的細胞に伴う $^{51}\text{Cr}$ 放出アッセイを用いて検出される。

#### 【0064】

3) 有効にワクチン接種された個体、感染から回復した個体、および／または慢性的に感染した患者の免疫からT細胞応答を呼び戻すという実証 (例えば, Rehmann, B. ら, J. Exp. Med. 181:1047, 1995; Doolan, D. L. ら, Immunity 7:97, 1997; Bertoni, R. ら, J. Clin. Invest. 100:503, 1997; Threlkeld, S. C. ら, J. Immunol. 159:1648, 1997; Diepolder, H. M. ら, J. Virol. 71:6011, 1997を参照のこと)。このストラテジーを適用する際に、応答を呼び戻すことは、例えば、感染を通じて天然に抗原に曝された (従って、「天然に」免疫応答を生成した) 被験体由来のPBLまたは感染に対してワクチン接種された患者

由来のPBLを培養することによって検出される。被験体由来のPBLを、インビトロで試験ペプチドおよび抗原提示細胞（APC）の存在下で1～2週間の間培養して、「ネイティブな」T細胞と比較して、「記憶」T細胞の活性化を可能にする。培養期間の終わりに、T細胞活性を、ペプチド感作された標的、T細胞増殖、またはリンホカイン放出を伴う $^{51}\text{Cr}$ 放出を含むT細胞活性についてのアッセイを用いて検出する。

#### 【0065】

以下は、本発明のペプチドエピトープおよび対応する核酸を記載する。

#### 【0066】

（IV．C．HLA分子に対するペプチドエピトープの結合親和性）

高度なHLA多型は、ワクチン開発へのエピトープベースのアプローチと共に考察するために重要な因子である。この因子に取り組むために、高いかまたは中間の親和性で複数のHLA分子に結合し得るペプチドを同定する工程を包含するエピトープの選択がしばしば使用され、最も好ましくは、これらのエピトープは、高いかまたは中間の親和性で2つ以上の対立遺伝子特異的HLA分子に結合する。

#### 【0067】

ワクチン組成物のための目的のCTL誘導ペプチドとしては、好ましくは、500nMまたは500 $\mu\text{M}$ より優れたクラスI HLA分子に対する $\text{IC}_{50}$ または結合親和性の値（すなわち、この値は500nM以下である）を有するペプチドが挙げられる。CTL誘導ペプチドとしては、好ましくは、1000nMまたは1000nMより優れたクラスII HLA分子に対する $\text{IC}_{50}$ または結合親和性の値（すなわち、この値は1,000nM以下である）を有するペプチドが挙げられる。例えば、ペプチド結合は、インビトロにおいて候補ペプチドが精製HLA分子に結合する能力を試験することによって評価される。次いで、高いかまたは中間の親和性を示すペプチドは、さらなる分析のために考察される。選択されたペプチドは、スーパータイプファミリーの他のメンバーについて試験される。好ましい実施形態において、交差反応結合を阻害するペプチドは、次いで、ワクチンまたは細胞スクリーニング分析において使用される。

## 【0068】

より高いHLA結合親和性は、典型的に、より大きな免疫原性と相関している。より大きな免疫原性は、いくつかの異なる様式において明確であり得る。免疫原性は、免疫応答が本当に誘発される否か、および任意の特定の応答の効力、ならびに応答が誘発される集団の程度に対応する。例えば、ペプチドは、強力な応答を生成する場合を除いて、集団の多様なアレイにおける免疫応答を引き起こし得る。これらの原理に従って、90%近い高結合ペプチドは、中間の親和性で結合するペプチドの約50%と対照してみると、免疫原性であることが見出されている。さらに、高結合親和性ペプチドは、より強力な免疫原性応答を引き起こす。結果として、高親和性結合ペプチドが使用される場合、ペプチドは同様の生物学的効果を引き起こす必要はあまりない。従って、本発明の好ましい実施形態において、高親和性結合エピトープは特に有用である。

## 【0069】

HLAクラスI分子に対する結合親和性と結合抗原上の別個のペプチドエピトープの免疫原性との間の関係は、本発明者によって当該分野で初めて決定された。結合親和性と免疫原性との間の相関は、2つの異なる実験的なアプローチで分析された（例えば、Setteら、J. Immunol. 153:5586-5592, 1994を参照のこと）。第1のアプローチにおいて、10,000倍の範囲を超えるHLA結合親和性の範囲の潜在的エピトープの免疫原性が、HLA-A\*0201トランスジェニックマウスにおいて分析された。第2のアプローチにおいて、約100個の異なるB型肝炎ウイルス（HBV）由来潜在的エピトープ（全てが、A\*0201結合モチーフを保有する）の抗原性は、急性肝炎の患者由来のPBLを使用することによって評価された。これらのアプローチに従って、約500nM（好ましくは、50nM以下）の親和性閾値はペプチドエピトープがCTL応答を引き起こす能力を決定することが決定された。これらのデータは、天然でプロセシングされたペプチドおよび合成T細胞エピトープに対するクラスI結合親和性の測定について当てはまる。これらのデータはまた、T細胞応答の具体化（shaping）における決定因子の選択の重要な役割を示す（例えば、Schaefferら、Proc. Natl. Acad. Sci.

USA 86:4649-4653, 1989を参照のこと)。

#### 【0070】

HLAクラスII DR分子の状況における免疫原性に関連する親和性閾値がまた示されている(例えば、Southwoodら、J. Immunology 160:3363-3373, 1998を参照のこと)。DR結合親和性の生物学的に有意な閾値を規定するために、32個のDR拘束エピトープのそれらの拘束エレメント(すなわち、モチーフに結合するHLA分子)に対する結合親和性のデータベースが集計された。これらの場合の約半分(32個のエピトープのうち15個)において、DR拘束は高結合親和性(すなわち、100 nM以下の結合親和性値)に関連していた。これらの場合の残りの半分(32個のうちの16個)において、DR拘束は中間の親和性(100~1000 nM範囲の結合親和性値)に関連していた。32個の場合のうちただ1つにおいて、DR制限は1000 nM以上のIC<sub>50</sub>に関連していた。従って、1000 nMは、DR分子の状況における免疫原性に関連する親和性閾値として定義され得る。

#### 【0071】

HLA分子に対するペプチドの結合親和性は、以下の実施例1のように決定され得る。

#### 【0072】

(IV. D. ペプチドエピトープ結合モチーフおよびスーパーモチーフ)

この数年間で、大部分のHLAクラスIおよびクラスII分子が比較的少量のスーパータイプ(これらの各々は、ペプチド結合範囲と主なペプチド結合ポケットのコンセンサス構造とを大部分重ねることによって特徴付けられる)に分類され得ることを示す証拠が蓄積されている。

#### 【0073】

HLA分子ポケット分析について、結晶学的研究において記載されるようなHLAクラスI分子のBおよびFポケットを含む残基が分析された(例えば、Guo, H. C. ら、Nature 360:364, 1992; Saper, M. A., Bjorkman, P. J. およびWiley, D. C., J. Mol. Biol. 219:277, 1991; Maddern, D. R., Garbo

cz i, D. N. および Willey, D. C., Cell 75:693, 1993; Parham, P., Adams, E. J., および Arnett, K. L., Immunol. Rev. 143:141, 1995を参照のこと)。これらの分析において、残基9、45、63、66、67、70および99は、Bポケットを構成すると考えられ；そしてそのBポケットは、ペプチドリガンドの2位におけるアミノ酸残基に対する特異性を決定すると考えられた。同様に、残基77、80、81および116は、Fポケットの特異性を決定すると考えられ；このFポケットは、HLAクラスI分子により結合されたペプチドリガンドのC末端残基に対する特異性を決定するとみなされた。

#### 【0074】

単一のアミノ酸置換抗原アナログの研究、および内因的に結合し、天然でプロセシングされたペプチドの配列決定によって、HLA分子への対立遺伝子特異的結合に必要な重要な残基が同定された。これらの残基の存在は、HLA分子に対する結合親和性と相関する。高いかまたは中間の親和性結合に相関するモチーフおよび／またはスーパーモチーフの同定は、ワクチンに含有させるための免疫原性ペプチドエピトープの同定に関する重要な問題である。Kastら(J. Immunol. 152:3904-3912, 1994)は、モチーフ保有ペプチドは、対立遺伝子特異的HLAクラスI分子に結合するエピトープの90%を構成することを示した。この研究において、9個のアミノ酸長かつ8個のアミノ酸が重なる全ての可能なペプチド(240個のペプチド)(これはヒト乳頭腫ウイルス属16型のE6およびE7タンパク質の配列全体をカバーする)は、異なる人種間で高頻度で発現される5個の対立遺伝子特異的HLA分子への結合について評価された。この偏りのないペプチドのセットは、HLAクラスIモチーフの予測値の評価を可能にした。240個のペプチドのセットから、高いかまたは中間の親和性を有する対立遺伝子特異的HLA分子に結合する22個のペプチドが同定された。これらの22個のペプチドのうち、20個(すなわち、91%)はモチーフを保有していた。従って、この研究は、ワクチンに含有させるためのペプチドエピトープの同定のためのモチーフの値を立証し：モチーフベースの同定技術の適用は、標的抗原タンパク質配列における潜在的エピトープの90%のス

クリーニングを排除する。

【0075】

このようなペプチドエピトープは、以下に記載される表で同定される。

【0076】

本発明のペプチドはまた、MHCクラスII DR分子に結合するエピトープを含み得る。ペプチドのN末端およびC末端に対する、モチーフのサイズおよび結合フレームの位置の両方におけるより大きな程度の異質性は、クラスIIペプチドリガンドについて存在する。このHLAクラスIIペプチドリガンドの増加した異質性は、HLAクラスII分子の結合溝の構造に由来し、これはクラスIの対応物と異なり、両端で開いている。HLAクラスII DRB\*0101ペプチド複合体の結晶学的分析は、結合の主なエネルギーが、DRB\*0101分子上の相補的ポケットと複合化したペプチド残基に寄与されることを示した。重要なアンカー残基は、最も深い疎水性ポケットに係合し（例えば、Madden, D. R. Ann. Rev. Immunol. 13:587, 1995を参照のこと）、そして1位（P1）と称される。P1は、クラスII結合ペプチドエピトープのN末端残基を表すが、より代表的には、1つ以上の残基によって、N末端に向かって隣接される。他の研究はまた、様々なDR分子に結合するため、P1に対してC末端に向かって6番目の位置のペプチド残基の重要な役割を指摘した。

【0077】

従って、本発明のペプチドは、いくつかのHLA特異的アミノ酸モチーフの任意の1つによって同定される（例えば、表IIIを参照のこと）。モチーフの存在がいくつかの対立遺伝子特異的HLA抗原に結合する能力と対応する場合、これはスーパーモチーフと称される。特定のアミノ酸モチーフを有するペプチドに結合するHLA分子は、まとめてHLA「スーパーモチーフ」と称される。

【0078】

以下に記載され、表IIIに要約されるペプチドモチーフおよびスーパーモチーフは、本発明に従うペプチドエピトープの同定および使用のためのガイドンスを提供する。



## 【0079】

それぞれのスーパーモチーフまたはモチーフを保有するペプチドエピトープの例は、以下の各モチーフまたはスーパーモチーフの説明において示されるような表に挙げられる。これらの表は、ペプチドエピトープのいくつかについての結合親和性比の表を含む。この比は以下の式を使用することによって、 $IC_{50}$ に変換され得る：標準ペプチドの $IC_{50}$ ／比＝試験ペプチド（すなわち、ペプチドエピトープ）の $IC_{50}$ 。クラス I ペプチドに対する結合親和性を決定するために使用される標準ペプチドの $IC_{50}$ 値は、表 I V に示される。クラス II ペプチドに対する結合親和性を決定するために使用される標準ペプチドの $IC_{50}$ 値は、表 V に示される。本明細書中に記載される結合アッセイのための標準として使用されるペプチドは、標準の例であり；代替の標準ペプチドはまた、このような分析を実施する場合に使用され得る。

## 【0080】

各表に列挙されるペプチドエピトープ配列を得るために、14個のHCV単離体のタンパク質配列データは、指定されたスーパーモチーフまたはモチーフの存在について評価された。この14個の株は、HPCCGAA、HPCPLYPRE、HCV-H-CMR、HCV-J1、HPCGENANTI、HPCGENOM、HPCHUMR、HPCJCG、HPCJTA、HCV-J483、HCV-JK1、HCV-N、HPCPOLP、およびHCV-J8を含む。ペプチドエピトープは、さらに、これらの14個の株の中の保存性に基づいて評価された。保存性の基準は、HLAクラス I 結合ペプチドの配列全体が、特定のタンパク質について利用可能な配列の79%において全体的に保存されていることを必要とする。同様に、保存性の基準は、HLAクラス II 結合ペプチドの9マーのコア領域全体が、特定のタンパク質について利用可能な配列の79%において全体的に保存されていることを必要とする。選択されたペプチドエピトープの保存性%は、表に示される。頻度（すなわち、この14個の株のうち全体的に保存されるペプチド配列が同定された株の数）もまた示される。表中の「位置」のカラムは、エピトープの最初のアミノ酸残基に対応するHCVポリタンパク質のアミノ酸位置を示す。「アミノ酸の数」は、エピトープ配列中の残基の数を示す。

## 【0081】

(CTL誘導ペプチドエピトープを示すHLAクラスIモチーフ)

以下に示されるHLAクラスIペプチドエピトープスーパーモチーフおよびモチーフの一次アンカー残基を、表Iに要約する。表I(a)に記載されるHLAクラスIモチーフは、本明細書中で、本願発明に最もよく関連するものである。一次および二次アンカー位置は、表IIに要約される。HLAクラスIスーパータイプファミリーを含む対立遺伝子特異的HLA分子は、表VIに列挙される。

## 【0082】

(IV. D. 1. HLA-A1スーパーモチーフ)

HLA-A1スーパーモチーフは、エピトープの2位における小さな(TまたはS)または疎水性の(L、I、VまたはM)一次アンカー残基のペプチドリガンドにおける存在によって特徴付けられ、そしてエピトープのC末端位における芳香族の(Y、FまたはW)一次アンカー残基のペプチドリガンドにおける存在によって特徴付けられる。A1スーパーモチーフ(すなわち、HLA-A1スーパータイプ)に結合するHLA分子の対応するファミリーは、少なくともA\*0101、A\*2601、A\*2602、A\*2501、およびA\*3201を含む(例えば、DiBrino, M. ら、J. Immunol. 151:5930, 1993; DiBrino, M. ら、J. Immunol. 152:620, 1994; Kondo, A. ら、Immunogenetics 45:249, 1997を参照のこと)。A1スーパーファミリーのメンバーであることが予測される他の対立遺伝子特異的HLA分子は、表VIに示される。個々のHLAタンパク質の各々に結合するペプチドは、一次および/または二次アンカー位置における置換によって、好ましくはスーパーモチーフに対して特異化されたそれぞれの残基を選択することによって調節され得る。

## 【0083】

A1スーパーモチーフを含むペプチドエピトープは、表VIIに記載される。

## 【0084】

(IV. D. 2. HLA-A2スーパーモチーフ)

対立遺伝子特異的HLA-A2.1分子に対する一次アンカーの特異性(Fa

l k ら、Nature 351:290-296, 1991; Hunt ら、Science 255:1261-1263, 1992; Parker ら、J. Immunol. 149:3580-3587, 1992)、およびHLA A2 ファミリー内の交差反応結合 (Fruci ら、Human Immunol. 38:187-192, 1993; Tanigaki ら、Human Immunol. 39:155-162, 1994) が記載されている。本発明者らは、複数の対立遺伝子特異的HLA A2 分子への交差反応結合を決定するさらなる一次アンカー残基を規定した (Ruppert ら、Cell 74:929-937, 1993; Del Guercio ら、J. Immunol. 154:685-693, 1995; Kast ら、J. Immunol. 152:3904-3912, 1994)。HLA-A2 スーパーモチーフは、エピトープの2位に一次アンカー残基としてL、I、V、M、A、T またはQを、C末端位に一次アンカー残基としてL、I、V、M、A またはTを有するペプチドリガンドを含む。

#### 【0085】

HLA 分子の対応するファミリー (すなわち、これらのペプチドに結合するHLA-A2 スーパータイプ) は、少なくともA\*0201、A\*0202、A\*0203、A\*0204、A\*0205、A\*0206、A\*0207、A\*0209、A\*0214、A\*6802、およびA\*6901からなる。A2 スーパーファミリーのメンバーであることが予測される他の対立遺伝子特異的HLA 分子は、表VI に示される。以下に詳細に説明されるように、個々の対立遺伝子特異的HLA 分子の各々への結合は、一次アンカーおよび/または二次アンカー位置における置換、好ましくは、このスーパーモチーフに対して特異化されたそれぞれの残基を選択することによって調節され得る。

#### 【0086】

A2 スーパーモチーフを含むペプチドエピトープは、表VII に記載される。2位において一次アンカー残基V、A、T またはQを、そしてC末端位においてL、I、V、A またはTを含むモチーフは、ここで本願発明に特に最も関連するものである。

## 【0087】

## (IV. D. 3. HLA-A3スーパーモチーフ)

HLA-A3スーパーモチーフは、エピトープの2位における一次アンカーとして、A、L、I、V、M、SまたはTのペプチドリガンドにおける存在によって特徴付けられ、そしてエピトープのC末端（すなわち、9マアの9位）における一次アンカーとして、正電荷の残基RまたはKの存在によって特徴付けられる。A3スーパーモチーフに結合するHLA分子（HLA-A3スーパータイプ）の対応するファミリーの例示的なメンバーは、少なくともA\*0301、A\*1101、A\*3101、A\*3301およびA\*6801を含む。A3スーパーファミリーのメンバーであることが予測される他の対立遺伝子特異的HLA分子は、表VIに示される。以下で詳細に説明されるように、個々の対立遺伝子特異的HLAタンパク質の各々に結合するペプチドは、ペプチドの一次および／または二次アンカー位置におけるアミノ酸の置換、好ましくは、スーパーモチーフに特異化されたそれぞれの残基を選択することによって調節され得る。

## 【0088】

A3スーパーモチーフを含むペプチドエピトープは、表IXに記載される。

## 【0089】

## (IV. D. 4. HLA-A24スーパーモチーフ)

HLA-A24スーパーモチーフは、エピトープの2位における一次アンカーとして、芳香族（F、WまたはY）または疎水性脂肪族（L、I、V、MまたはT）残基のペプチドリガンドにおける存在によって特徴付けられ、そしてエピトープのC末端位における一次アンカーとして、Y、F、W、L、IまたはMの存在によって特徴付けられる。A24スーパーモチーフ（すなわち、A24スーパータイプ）に結合するHLA分子の対応するファミリーは、少なくともA\*2402、A\*3001およびA\*2301を含む。A24スーパーファミリーのメンバーであることが予測される他の対立遺伝子特異的HLA分子は、表VIに示される。対立遺伝子特異的HLA分子の各々に結合するペプチドは、一次および／または二次アンカー位置における置換、好ましくは、スーパーモチーフに特異化されたそれぞれの残基を選択することによって調節され得る。

## 【0090】

A24スーパーモチーフを含むペプチドエピトープは、表Xに記載される。

## 【0091】

## (IV. D. 5. HLA-B7スーパーモチーフ)

HLA-B7スーパーモチーフは、一次アンカーとして、エピトープの2位におけるペプチド保有プロリンによって特徴付けられ、そしてエピトープのC末端位における一次アンカーとして、疎水性または脂肪族のアミノ酸(L、I、V、M、A、F、WまたはY)によって特徴付けられる。B7スーパーモチーフに結合するHLA分子(すなわち、HLA-B7スーパータイプ)の対応するファミリーは、B\*0702、B\*0703、B\*0704、B\*0705、B\*1508、B\*3501、B\*3502、B\*3503、B\*3504、B\*3505、B\*3506、B\*3507、B\*3508、B\*5101、B\*5102、B\*5103、B\*5104、B\*5105、B\*5301、B\*5401、B\*5501、B\*5502、B\*5601、B\*5602、B\*6701、およびB\*7801を含む少なくとも26個のHLA-Bタンパク質からなる(例えば、Sidneyら、J. Immunol. 154:247, 1995; Barberら、Curr. Biol. 5:179, 1995; Hillら、Nature 360:434, 1992; Rammenseeら、Immunogenetics 41:178, 1995を参照のこと)。B7スーパーファミリーのメンバーであることが予測される他の対立遺伝子特異的HLA分子は、表VIに示される。以下に詳細に説明されるように、個々の対立遺伝子特異的HLAタンパク質の各々に結合するペプチドは、ペプチドの一次および/または二次アンカー位置における置換、好ましくは、スーパーモチーフに特異化されたそれぞれの残基を選択することによって調節され得る。

## 【0092】

B7スーパーモチーフを含むペプチドエピトープは、表XIに記載される。

## 【0093】

## (IV. D. 6. HLA-B27スーパーモチーフ)

HLA-B27スーパーモチーフは、エピトープの2位における一次アンカー

として、正電荷の残基（R、HまたはK）のペプチドリガンドにおける存在によって特徴付けられ、そしてエピトープのC末端位における一次アンカーとして、疎水性の残基（F、Y、L、W、M、I、AまたはV）のペプチドリガンドにおける存在によって特徴付けられる。B 27 スーパーモチーフ（すなわち、B 27 スーパータイプ）に結合するHLA分子の対応するファミリーの例示的なメンバーは、少なくともB\*1401、B\*1402、B\*1509、B\*2702、B\*2703、B\*2704、B\*2705、B\*2706、B\*3801、B\*3901、B\*3902、およびB\*7301を含む。B 27 スーパーファミリーのメンバーであることが予測される他の対立遺伝子特異的HLA分子は、表V Iに示される。対立遺伝子特異的HLA分子の各々に結合するペプチドは、一次および／または二次アンカー位置における置換、好ましくは、スーパーモチーフに特異化されたそれぞれの残基を選択することによって調節され得る。

#### 【0094】

B 27 スーパーモチーフを含むペプチドエピトープは、表X I Iに記載される。

#### 【0095】

##### （I V. D. 7. HLA-B 44 スーパーモチーフ）

HLA-B 44 スーパーモチーフは、エピトープの2位における一次アンカーとして、負電荷の残基（DまたはE）のペプチドリガンドにおける存在によって特徴付けられ、そしてエピトープのC末端位における一次アンカーとして、疎水性残基（F、W、Y、L、I、M、VまたはA）の存在によって特徴付けられる。B 44 スーパーモチーフ（すなわち、B 44 スーパータイプ）に結合するHLA分子の対応するファミリーの例示的なメンバーは、少なくともB\*1801、B\*1802、B\*3701、B\*4001、B\*4002、B\*4006、B\*4402、B\*4403、およびB\*4006を含む。対立遺伝子特異的HLA分子の各々に結合するペプチドは、一次および／または二次アンカー位置における置換、好ましくは、スーパーモチーフに特異化されたそれぞれの残基を選択することによって調節され得る。

#### 【0096】

## (I V. D. 8. H L A-B 5 8スーパーモチーフ)

H L A-B 5 8スーパーモチーフは、エピトープの2位における一次アンカー残基として、小さな脂肪族残基 (A、SまたはT) のペプチドリガンドにおける存在によって特徴付けられ、そしてエピトープのC末端位における一次アンカー残基として、芳香族または疎水性残基 (F、W、Y、L、I、V、MまたはA) の存在によって特徴付けられる。B 5 8スーパーモチーフ (すなわち、B 5 8スーパータイプ) に結合するH L A分子の対応するファミリーの例示的なメンバーは、少なくともB\*1516、B\*1517、B\*5701、B\*5702、およびB\*5801を含む。B 5 8スーパーファミリーのメンバーであることが予測される他の対立遺伝子特異的H L A分子は、表V Iに示される。対立遺伝子特異的分子の各々に結合するペプチドは、一次および/または二次アンカー位置における置換、好ましくは、スーパーモチーフに特異化されたそれぞれの残基を選択することによって調節され得る。

## 【0097】

B 5 8スーパーモチーフを含むペプチドエピトープは、表X I I Iに記載される。

## 【0098】

## (I V. D. 9. H L A-B 6 2スーパーモチーフ)

H L A-B 6 2スーパーモチーフは、エピトープの2位における一次アンカーとして、極性の脂肪族残基Qまたは疎水性の脂肪族残基 (L、V、M、IまたはP) のペプチドリガンドにおける存在によって特徴付けられ、そしてエピトープのC末端位における一次アンカーとして、疎水性残基 (F、W、Y、M、I、V、LまたはA) の存在によって特徴付けられる。B 6 2スーパーモチーフ (すなわち、B 6 2スーパータイプ) に結合するH L A分子の対応するファミリーの例示的なメンバーは、少なくともB\*1501、B\*1502、B\*1513、およびB\*5201を含む。B 6 2スーパーファミリーのメンバーであることが予測される他の対立遺伝子特異的H L A分子は、表V Iに示される。対立遺伝子特異的H L A分子の各々に結合するペプチドは、一次および/または二次アンカー位置における置換、好ましくは、スーパーモチーフに特異化されたそれぞれの残基

を選択することによって調節され得る。

#### 【0099】

B62スーパーモチーフを含むペプチドエピトープは、表XIVに記載される。

#### 【0100】

(IV. D. 10. HLA-A1モチーフ)

HLA-A1モチーフは、エピトープの2位における一次アンカー残基として、T、SまたはMのペプチドリガンドにおける存在によって特徴付けられ、そしてエピトープのC末端位における一次アンカー残基として、Yの存在によって特徴付けられる。代替の対立遺伝子特異的A1モチーフは、2位よりむしろ3位における一次アンカー残基によって特徴付けられる。このモチーフは、エピトープの3位における一次アンカー残基として、D、E、AまたはSの存在によって特徴付けられ、そしてC末端位における一次アンカー残基として、Yの存在によって特徴付けられる。HLA-A1に結合するペプチドは、一次および／または二次アンカー位置における置換、好ましくは、このモチーフに特異化されたそれぞれの残基を選択することによって調節され得る。

#### 【0101】

A1モチーフのいずれかを含むペプチドエピトープは、表XVに記載される。2位にT、SまたはMを、およびC末端位にYを含むエピトープはまた、表VIIに列挙されるHLA-A1スーパーモチーフ保有ペプチドエピトープの表に含まれる。

#### 【0102】

(IV. D. 11. HLA-A\*0201モチーフ)

HLA-A\*0201モチーフは、9残基ペプチドの2位における一次アンカー残基として、LまたはMのペプチドリガンドにおける存在によって特徴付けられ、そして9残基ペプチドのC末端位における一次アンカー残基として、LまたはVの存在によって特徴付けられることが決定された(Falkら、Nature 351:290-296, 1991)。A\*0201モチーフは、9アミノ酸ペプチドの2位においてIを、C末端においてIまたはAをさらに含むこと



が決定された (Huntら、Science 255:1261-1263, March 6, 1992; Parkerら、J. Immunol. 149:3580-3587, 1992)。続いて、A\*0201対立遺伝子特異的モチーフは、本発明者らによって、V、A、TまたはQを、エピトープの2位における一次アンカー残基としてさらに含むことが規定され、そしてMを、C末端位における一次アンカー残基として含むことが規定されている。さらに、A\*0201対立遺伝子特異的モチーフは、C末端位に、Tを含むことが見出された (Kastら、J. Immunol. 152:3904-3912, 1994)。従って、HLA-A\*0201モチーフは、L、I、V、M、A、TまたはQを有するペプチドリガンドを、エピトープの2位における一次アンカー残基として含み、そしてL、I、V、M、AまたはTを、エピトープのC末端位における一次アンカー残基として含む。HLA-A\*0201モチーフの一次アンカー位置を特徴付ける好ましくかつ寛容される残基は、A2スーパーモチーフを示す残基と同一である (関連のデータの総説については、例えば、Del Guercioら、J. Immunol. 154:685-693, 1995; Ruppertら、Cell 74:929-937, 1993; Sidneyら、Immunol. Today 17:261-266, 1996; SetteおよびSidney, Curr. Opin. in Immunol. 10:478-482, 1998を参照のこと)。A\*0201モチーフを特徴付ける二次アンカー残基は、本明細書中で開示されるように、さらに定義されている。これらは、表IIに開示される。HLA-A\*0201分子に結合するペプチドは、一次および/または二次アンカー位置における置換、好ましくは、このモチーフに特異化されたそれぞれの残基を選択することによって調節され得る。

### 【0103】

A\*0201を含むペプチドエピトープは、表VIIに記載される。一次アンカー残基V、A、TまたはQを、2位に含み、L、I、V、AまたはTを、C末端位に含むA\*0201モチーフは、本明細書中で、本願発明に特に最も関連するものである。

### 【0104】

## (IV. D. 12. HLA-A3モチーフ)

HLA-A3モチーフは、エピトープの2位における一次アンカー残基として、L、M、V、I、S、A、T、F、C、GまたはDのペプチドリガンドにおける存在によって特徴付けられ、そしてエピトープのC末端位における一次アンカー残基として、K、Y、R、H、FまたはAの存在によって特徴付けられる。HLA-A3に結合するペプチドは、一次および/または二次アンカー位置における置換、好ましくはこのモチーフに特異化されたそれぞれの残基を選択することによって調節され得る。

## 【0105】

A3スーパーモチーフの一次アンカー残基は、A3およびA11対立遺伝子特異的モチーフの一次アンカー残基のサブセットを含む。A3モチーフを含むペプチドエピトープは、表XVIに記載される。A3スーパーモチーフを含むペプチドエピトープはまた、表IXに列挙される。

## 【0106】

## (IV. D. 13. HLA-A11モチーフ)

HLA-A11モチーフは、エピトープの2位における一次アンカー残基として、V、T、M、L、I、S、A、G、N、C、DまたはFのペプチドリガンドにおける存在によって特徴付けられ、そしてエピトープのC末端位における一次アンカー残基として、K、R、YまたはHの存在によって特徴付けられる。HLA-A11に結合するペプチドは、一次および/または2次アンカー位置における置換、好ましくはこのモチーフに特異化されたそれぞれの残基を選択することによって、調節され得る。

## 【0107】

A11モチーフを含むペプチドエピトープは、表XVIIに記載され、A3対立遺伝子特異的モチーフを含むペプチドエピトープもまた、A3モチーフの一次アンカー特異性とA11モチーフの一次アンカー特異性との間の重なりのため、この表に示される。さらに、A3スーパーモチーフを含むペプチドエピトープもまた、表IXに列挙される。

## 【0108】

## (I V. D. 14. H L A - A 24モチーフ)

H L A - A 24モチーフは、位置2における一次アンカー残基としてY、F、W、またはM、およびこのエピトープのC末端位置における一次アンカー残基としてF、L、I、またはWのペプチドリガンドにおける存在によって特徴付けられる。H L A - A 24分子に結合するペプチドは、一次および／または二次のアンカー位置における置換；好ましくは、このモチーフに特異化されたそれぞれの残基を選択することによって調節され得る。

## 【0109】

A 24モチーフを含むペプチドエピトープは、表X V I I Iに示される。これらのエピトープはまた、表Xにおいて列挙され、これは、A 24対立遺伝子特異的モチーフを特徴付ける一次アンカー残基が、A 24スーパーモチーフ一次アンカー残基のサブセットを含むので、H L A - A 24スーパーモチーフ保有ペプチドエピトープを示す。

## 【0110】

## (H L AクラスI I結合モチーフ)

以下に描写したH L AクラスI Iペプチドエピトープスーパーモチーフならびにモチーフの一次および二次のアンカー残基は、表I I Iに要約される。

## 【0111】

## (I V. D. 15. H L A - D R - 1 - 4 - 7スーパーモチーフ)

モチーフはまた、3つの共通のH L AクラスI I対立遺伝子特異的H L A分子(H L A D R B 1\*0401、H L A D R B 1\*0101、およびH L A D R B 1\*0701)に結合するペプチドについて同定された。集合的に、これらのモチーフ由来の共通の残基は、H L A D R - 1 - 4 - 7スーパーモチーフを描写する。これらのD R分子に結合するペプチドは、位置1における一次アンカー残基として大きな芳香族残基または疎水性残基(Y、F、W、L、I、V、またはM)、および9マールのコア領域の位置6における一次アンカー残基として小さな非電荷残基(S、T、C、A、P、V、I、L、またはM)によって特徴付けられるスーパーモチーフを保有する。これらのH L A型の各々についての対立遺伝子特異的二次エフェクター(e f f e c t)および二次アンカーはまた、同

定されている。これらは、表 I I I において示される。HLA DRB1\*0401、HLA DRB1\*0101、および／または HLA DRB1\*0701 に結合するペプチドは、一次および／または二次のアンカー位置における置換、好ましくは、スーパーモチーフに特異化されたそれぞれの残基を選択することによって調節され得る。

#### 【0112】

本分析のために使用された HCV 株の保存されたペプチドエピトープ（すなわち、79%以上（11/14以上）で保存されている）は、DR-1-4-7 スーパーモチーフを含む9残基のコア（9残基のコアが79%以上で保存されている）を含むエピトープに対応するように記載され得る（ここで、このモチーフの位置1は、9残基のコアの位置1にある）。保存された9マーカーのコア領域は、表 X I X a において示される。15アミノ酸残基長のそれぞれの例示的なペプチドエピトープ（その各々は、保存された9残基のコアを含む）はまた、表の「a」節において示される。例示的な15残基のスーパーモチーフ保有ペプチドについての交差反応結合データは、表 X I X b において示される。

#### 【0113】

（I V. D. 16. HLA-DR3モチーフ）

2つの代替的なモチーフ（すなわち、スーパーモチーフ）は、HLA-DR3分子に結合するペプチドエピトープを特徴付ける。第1のモチーフ（サブモチーフDR3A）において、大きな疎水性残基（L、I、V、M、F、またはY）は、9マーカーコアのアンカー位置1において存在し、そしてDは、このエピトープのカルボキシル末端に向かって位置4においてアンカーとして存在する。他のクラスIIモチーフなどの場合、コア位置1は、ペプチドN末端位置を占有してもよいし、占有しなくてもよい。

#### 【0114】

代替のDR3サブモチーフは、このエピトープのカルボキシル末端に向かう位置6における正電荷の存在によって、アンカー位置1における大きな疎水性残基の欠失、および／または位置4における負に荷電したアンカー残基か、もしくはアミド様アンカー残基の欠失を規定する。従って、代替の対立遺伝子特異的DR

3モチーフ（スーパーモチーフDR3B）について、L、I、V、M、F、Y、A、またはYは、アンカー位置1において存在する；D、N、Q、E、S、またはTは、アンカー位置4において存在する；そしてK、R、またはHは、アンカー位置6において存在する。HLA-DR3に結合するペプチドは、一次および／または二次のアンカー位置における置換、好ましくは、このモチーフに特異化されたそれぞれの残基を選択することによって調節され得る。

#### 【0115】

DR3Aスーパーモチーフを含む9残基の配列（ここで、このモチーフの位置1は、9残基のコアの位置1にある）に対応する保存された9マーのコア領域（すなわち、この分析のために使用された14HCV株の少なくとも79%保存されている配列）は、表XXaにおいて示される。15アミノ酸残基長のそれぞれの例示的なペプチドエピトープ（その各々は、保存された9残基のコアを含む）はまた、表XXaにおいて示される。表XXbは、例示的なDR3サブモチーフA保有ペプチドの結合データを示す。

#### 【0116】

DR3Bサブモチーフを含む保存された9マーのコア領域（すなわち、この分析のために使用された14HCV株の少なくとも79%保存されている配列）およびDR3サブモチーフBエピトープを含むそれぞれの例示的な15マーのペプチドは、表XXcにおいて示される。表XXdは、例示的なDR3サブモチーフB保有ペプチドの結合データを示す。

#### 【0117】

本明細書中の表に示されているHLAクラスIまたはクラスIIのペプチドエピトープの各々は、本願の発明の局面であることが単独で判断される。さらに、各々のペプチドエピトープが、任意の他のペプチドエピトープと組み合わせて使用され得ることもまた、本願の発明の局面である。

#### 【0118】

（IV．E．ワクチンの増大する集団適用範囲）

広範な集団適用範囲を有するワクチンが好ましい。なぜなら、このワクチンは、より商業的に実行可能であり、そして一般的に、ほとんどの人々に適用可能で

あるからである。広範な集団適用範囲は、全てが考慮される場合、この集団のほとんどに存在するHLA対立遺伝子に結合するペプチドエピトープを選択することを通じて、本発明のペプチド（およびこのようなペプチドをコードする核酸組成物）を用いて得られ得る。表XXIは、種々の民族性におけるHLAクラスIスーパータイプの全体の頻度（表XXI a）、ならびにA2スーパータイプ、A3スーパータイプ、およびB7スーパータイプによって達成される組み合わせられた集団適用範囲（表XXI b）を列挙する。このA2スーパータイプ、A3スーパータイプ、およびB7スーパータイプは、5つの主な民族集団の各々において40%を超える平均値でそれぞれ存在する。80%より多い範囲は、これらのスーパーモチーフの組み合わせを用いて達成されることを示唆する。これらの結果は、効果的で、かつ非民族的に偏った集団適用範囲は、制限数の交差反応ペプチドの使用の際に達成される。これらの3つの主なペプチド特異性を用いて達した集団適用範囲は高いが、範囲は拡大され、95%およびそれを超える集団適用範囲に達し得、そしてさらなるスーパーモチーフ保有ペプチドまたは対立遺伝子特異的モチーフ保有ペプチドの使用の際の正確な多重特異性応答をより容易に達成する。

#### 【0119】

B44スーパータイプ、A1スーパータイプ、およびA24スーパータイプは、これらの主な民族集団において平均25%～40%の範囲内で存在する（表XXI a）。全体としてあまり一般的ではないが、B27スーパータイプ、B58スーパータイプ、およびB62スーパータイプは、各々、少なくとも1つの主な民族集団において25%を超える頻度で存在する（表XXI a）。表XXI bは、5つの主な民族集団において同定されたHLAスーパータイプの組み合わせの評価された普及を要約する。A2範囲、A3範囲、およびB7範囲、または本明細書中に記載されるスーパータイプの全てへの、A1スーパータイプ、A24スーパータイプ、およびB44スーパータイプの包括によって得られる追加の範囲が示される。

#### 【0120】

A2スーパータイプ、A3スーパータイプおよびB7スーパータイプの先の定

義とともに本明細書中に示されるデータは、A 2 9、B 8、およびB 4 6の可能な除外とともに全ての抗原は、全部で9つのHLAスーパータイプに分類され得ることを示す。6つの最も頻度の高いスーパータイプ由来のエピトープを含むことによって、99%の平均集団適用範囲が、5つの主な民族集団について得られ得る。

#### 【0121】

##### (IV. F. 免疫応答刺激ペプチドアナログ)

一般的には、CTLおよびHTL応答は、全ての可能なエピトープに対して指向されない。それどころか、それらは、少数の「免疫優性 (immunodominant)」決定基に制限される (Zinkernagelら、Adv. Immunol. 27:5159, 1979; Benninkら、J. Exp. Med. 168:1935-1939 (1988); Rawleら、J. Immunol. 146:3977-3984 (1991))。免疫優性 (Benacerrafら、Science 175:273-279 (1972)) は、所定のエピトープの特定のHLAタンパク質を選択的に結合する能力 (決定基選択理論) (Vitellioら、J. Immunol. 131:1635 (1983); Rosenthalら、Nature 267:156-158 (1977)) または既存のTCR (T細胞レセプター) 特異性 (レパートリー理論) によって選択的に認識する能力 (Klein, J., IMMUNOLOGY, THE SCIENCE OF SELF/NONSELF DISCRIMINATION, John Wiley & Sons, New York, 270-310頁 (1982)) のいずれかによって説明され得る。主にプロセッシング事象と関連しているさらなる因子はまた、厳密な免疫原性を超えて決定することにおいて重要な役割を果し得ることが証明された。多くの可能な決定基の厳密な免疫原性は、免疫優性として示される (Sercarzら、Annu. Rev. Immunol. 11:729-766 (1993))。

#### 【0122】

優性および亜優性の概念は、感染症および癌の両方の免疫療法と関連する。例えば、慢性ウイルス疾患の経過において、亜優性エピトープの補充は、特に、優

性CTL特異性または優性HTL特異性が、ウイルス機構および他の機構の機能的寛容、抑制、変異によって不活化されている場合、感染の首尾よくクリアランスのために重要であり得る (Francoら、Curr. Opin. Immunol. 7:524-531 (1995))。癌抗原および腫瘍抗原の場合、最も高い結合親和性ペプチドの少なくともいくつかを認識するCTLは、機能的に不活化され得る。このような場合、より低い結合親和性ペプチドは、優先的に認識され、従って、治療的または予防的な抗癌ワクチンにおいて好ましい。

#### 【0123】

特に、公知の非ウイルス腫瘍関連抗原 (TAA) 由来の十分な数のエピトープが、HLAクラスIに中間の親和性 (50~500 nMの範囲のIC<sub>50</sub>) で結合することが注目されている。例えば、15個の公知のTAAペプチドのうち8個が、50~500 nM範囲で結合される腫瘍浸潤性リンパ球 (TIL) またはCTLによって認識したことが見出されている。これらのデータは、公知のウイルス抗原の90%が、50 nM未満のIC<sub>50</sub>でHLAクラスI分子によって結合されたが、50~500 nM範囲においては、約10%のみが結合したという評価とは対称的である (Setteら、J. Immunol., 153:558-592 (1994))。癌の周辺環境において、この現象は、最も高い結合ペプチドのいくつかを認識するCTLの排除または機能的阻害に起因する。これは、おそらくT細胞寛容事象のためである。

#### 【0124】

理論に拘束されることを意図しないで、優性エピトープに対するT細胞が、クローン的に排除され得るので、亜優性エピトープの選択は、既存のT細胞を補充することを可能にし得、次いで、これは、治療的または予防的応答を導くと考えられる。しかし、HLA分子の亜優性エピトープへの結合は、しばしば、優性のエピトープに対してよりも活動的ではない。従って、1つ以上のHLA分子に対する特定の免疫原性エピトープの結合親和性を調節し得、それによって、ペプチドによって誘発される免疫応答を調節し、例えば、より活動的な応答を誘発するアナログペプチドを調製することが必要である。この能力は、ペプチドベースのワクチンおよび治療剤の有用性を非常に増強する。



## 【0125】

スーパーファミリーの全ての対立遺伝子間の適切な交差反応性を有するペプチドが上記のスクリーニング手順によって同定されるが、交差反応性は、必ず可能な限り常に完全とは限らず、そして、特定の場合において、ペプチドの交差反応性を増加させる手順は、有用であり得る；さらに、このような手順をまた使用して、このペプチドの他の特性（例えば、結合親和性またはペプチド安定性）を改変し得る。所定のモチーフまたはスーパーモチーフ内のHLA対立遺伝子についてのペプチドの交差反応性を支配する一般的な規定を確立したが、特定の目的のペプチドの構造の変更（すなわち、アナログ化）は、より広範な（もしくは、他の改変された）HLA結合能力を達成するために、実行され得る。より詳細には、最も広い交差反応パターンを示すペプチドが、本明細書中の教示に従って作製され得る。本概念は、アナログ作製に関して、1/6/99に出願された同時係属中のU. S. S. N. 09/226, 775においてより詳細に示される。

## 【0126】

簡潔には、使用したストラテジーは、特定のHLA分子への結合と関連するモチーフまたはスーパーモチーフを利用する。このモチーフまたはスーパーモチーフは、一次アンカーおよび多くの場合、二次アンカーを有することによって定義される。アナログペプチドは、一次アンカー、二次アンカーにおいて、または一次アンカー位置および二次アンカー位置においてアミノ酸残基を置換することによって作製され得る。一般的には、アナログは、すでにモチーフまたはスーパーモチーフを保有するペプチドについて作製される。HLAクラスIおよびHLAクラスII結合ペプチドについて規定されているスーパーモチーフおよびモチーフの好ましい二次アンカー残基は、表IIおよびIIIにそれぞれ示される。

## 【0127】

本発明に従って、多数のモチーフまたはスーパーモチーフについて、それぞれのモチーフまたはスーパーモチーフを結合するHLAスーパータイプの対立遺伝子特異的HLA分子またはメンバーに結合することが有害である残基が規定される（表IIおよびIII）。従って、結合が有害であるこのような残基の除去が、本発明に従って実行され得る。例えば、A3スーパータイプの場合、このよう

な有害な残基を有する全てのペプチドが、分析されたペプチドの集団から除去されると、交差反応性率が、22%から37%に上昇する（例えば、Sidney, J. ら、Hu. Immunol. 45:79, 1996を参照のこと）。従って、所定のスーパーモチーフ内のペプチドの交差反応性を改善する1つのストラテジーは、単に、ペプチド内に存在する1つ以上の有害なを除去し、そして（ペプチドのT細胞認識に影響を与えない）小さな「中性」残基（例えば、Ala）を置換することである。ペプチド内の有害な残基の除去とともに、スーパーファミリー内の、対立遺伝子特異的HLA分子に、または複数のHLA分子への高い親和性での結合に関連する「好ましい」残基が挿入される場合、交差反応性の増強の可能性が予期される。

#### 【0128】

ワクチンとして使用される場合、アナログペプチドが、インビボでネイティブエピトープに対するCTL応答を実際に誘発する（またはクラスIIエピトープの場合、野生型ペプチドと交差反応するヘルパーT細胞を誘発する）ことを確実にするために、このアナログペプチドは、適切なHLA対立遺伝子の個体からインビトロでT細胞を免疫するために使用され得る。その後、免疫された細胞の、野生型ペプチドに感作した標的細胞の溶解を誘導する能力が評価される。これは、内因的に産生された抗原がまた、関連のT細胞によって認識されるか否かを確立するために、抗原提示細胞として、適切な遺伝子を用いて感染またはトランスフェクトのいずれかをされた細胞、あるいはクラスIIエピトープのみの場合は、タンパク質抗原全体を用いてパルスされた細胞を使用することが望ましい。

#### 【0129】

本発明の別の実施形態は、弱く結合するアナログを作製し、それによって、適当な数の交差反応細胞結合因子を確実にすることである。500～5000 nMの結合親和性を示し、1つまたは両方の位置において適用可能であるが、最適下限の一次アンカーを有するクラスI結合ペプチドは、それぞれのスーパータイプに従って、好ましいアンカー残基を置換することによって「固定」され得る。次いで、このアナログペプチドは、交差結合活性について試験され得る。

#### 【0130】

効果的なペプチドアナログを作製するための別の実施形態は、ペプチド安定性または可溶性（例えば、液体環境下で）に対する不都合な影響を有する残基の置換を含む。この置換は、ペプチドエピトープのいずれかの位置で生じ得る。例えば、システイン（C）は、 $\alpha$ アミノ酪酸で優先して置換され得る。この化学的性質のために、システインは、ジスルフィド結合を形成する性向を有し、そしてペプチドを構造的に十分に改変し、結合能力を減少する。Cの $\alpha$ アミノ酪酸での置換は、この問題を多少とも解決するだけでなく、特定の例（例えば、Setteらによる概説、Persistent Viral Infections, R. AhmedおよびI. Chen編、John Wiley & Sons, 英国（1999）を参照のこと）において結合能力および交差結合能力を実際に改善する。システインの $\alpha$ アミノ酪酸での置換は、ペプチドエピトープのいずれかの残基（すなわち、アンカー位置または非アンカー位置のいずれかにおいて）において生じ得る。

#### 【0131】

代表的なアナログペプチドは、表XXIIに示される。表は、適切である場合、アナログペプチドおよびモチーフまたはスーパーモチーフの長さもしくは配列を示す。「固定された命名」の列にある情報は、それぞれのアナログについての示された位置番号において置換された残基を示す。

#### 【0132】

（IV. G. スーパーモチーフまたはモチーフを含有するペプチドについての、疾患関連抗原由来タンパク質配列のコンピュータスクリーニング）

標的抗原におけるスーパーモチーフ保有エピトープまたはモチーフ保有エピトープを同定するために、ネイティブなタンパク質配列（例えば、腫瘍関連抗原）、または感染生物由来の配列、または移植のためのドナー組織由来の配列を、例えば、理論的予測（intellectual calculation）を計算するための手段またはコンピュータを使用してスクリーニングして、配列内のスーパーモチーフまたはモチーフの存在を決定する。ネイティブなペプチドの分析から得られた情報が、ネイティブなペプチドの状態を評価するために直接使用され得るか、またはペプチドエピトープを生成するために引き続き利用され

得る。

#### 【0133】

本願のスーパーモチーフまたはモチーフの発現のためのタンパク質配列を迅速にスクリーニングすることを可能にするコンピュータプログラムは、本発明により包含され、アナログペプチドの生成を可能にするプログラムも同様に含まれる。これらのプログラムは、任意の同定されたアミノ酸配列を分析するかまたは、未知の配列に関して操作し、そして同時に配列を決定し、そしてそのモチーフ保有エピトープを同定することが実行され；アナログが、その上、同時に決定され得る。一般的に、同定された配列は、病原性生物または腫瘍関連ペプチド由来である。例えば、本明細書中で考えられる標的分子としては、限定されず、HCVの、コア領域、S領域、E1領域、NS1/E2領域、NS2領域、NS3領域、NS4領域、およびNS5領域が挙げられる。

#### 【0134】

同じ標的タンパク質の複数の改変体の配列が可能である場合、ペプチドはまた、それらの保存に基づいて選択され得る。保存について現在好ましい基準は、HLAクラスI結合ペプチドの配列全体またはクラスII結合ペプチドの9マーコア全体が、特定のタンパク質に関して、評価される配列の少なくとも79%において完全に（すなわち、100%）保存されることを規定する。保存のこの規定は、本明細書中で使用されている；けれど、当業者に理解されるように、保存のより高いかまたはより低い程度は、所定の抗原標的に対して適切であるように使用され得る。

#### 【0135】

ペプチド結合の予測のために利用される選択基準は、実際の結合と最も効率的に対応するために、可能な限り正確であることが重要である。適切な一次アンカーの存在に基づいて、例えば、HLA-A\*0201に結合するペプチドの予測は、約30%の割合でポジティブである（例えば、Ruppert, J. ら、Cell 74:929, 1993）。しかし、本明細書中に開示されるペプチド-HLA結合データ、関連特許出願におけるデータ、および当該分野におけるデータを徹底的に分析することにより、本発明者らは、一次アンカー残基単独の存

在に基づく同定に対して、予測値を劇的に増大する多数の対立遺伝子特異的多項式アルゴリズムを開発した。これらのアルゴリズムは、一次アンカーの存在または非存在を考慮するだけでなく、（異なる位置における異なるアミノ酸の影響を説明するために）二次アンカー残基の、ポジティブな（positive）存在または有害な（deleterious）存在も考慮に入れる。このアルゴリズムは、本質的に、ペプチドHLA相互作用の全体の親和性（または $\Delta G$ ）がこの型の一次多項式関数として近似され得るという前提に基づき：

$$\Delta G = a_{1i} \times a_{2i} \times a_{3i} \cdots \times a_{ni}$$

ここで、 $a_{ji}$ は、 $n$ 個のアミノ酸のペプチドの配列に沿った、所定の位置（ $i$ ）における所定のアミノ酸（ $j$ ）の存在の効果を示す係数である。この方法の重要な仮定は、各位置における効果が、本質的に、各他の位置の効果と独立していることである。この仮定は、このペプチドがHLA分子に結合され、かつ本質的に延長された構造においてT細胞により認識されることを示す研究により立証される。特定のアルゴリズム係数の誘導が、例えば、Gulukota, K. ら、J. Mol. Biol. 267:1258, 1997に記載されている。

#### 【0136】

特定のモチーフをまた利用する、好ましいペプチド配列を同定するためのさらなる方法は、神経網の使用および分子モデルプログラムの使用を含む（例えば、Milik ら、Nature Biotechnology 16:753, 1998; Altuvia ら、Hum. Immunol. 58:1, 1997; Altuvia ら、J. Mol. Biol. 249:244, 1995; Buus, S. Curr. Opin. Immunol. 11:209-213, 1999; Brusic, V. ら、Bioinformatics 14:121-130, 1998; Parker ら、J. Immunol. 152:163, 1993; Meister ら、Vaccine 13:581, 1995; Hammer ら、J. Exp. Med. 180:2353, 1994; Sturniolo ら、Nature Biotechnol. 17:555 1999を参照のこと）。

#### 【0137】

例えば、少なくとも1つの好ましい二次アンカー残基を含むA\*0201モチーフ保有ペプチドのセットにおいて、任意の有害な二次アンカー残基の存在を回避しながら、ペプチドの69%が、500 nM未満のIC<sub>50</sub>を有するA\*0201を結合することが示されている（Ruppert, J. ら、Cell 74: 929, 1993）。これらのアルゴリズムはまた、カットオフスコアが、所望のように、より大きいかまたはより低い予測結合特性を有するペプチドのセットを選択するために調節され得る点で、柔軟である。

#### 【0138】

ペプチドエピトープを同定するためのコンピュータスクリーニングを利用することにおいて、タンパク質配列または翻訳された配列が、モチーフを探索するために開発されたソフトウェア（例えば、[FINDPATTERNS] プログラム（Devereux ら、Nucl. Acids Res. 12: 387-395, 1984）またはMotifSearch 1.4ソフトウェアプログラム（D. Brown, San Diego, CA））を使用して分析され、適切なHLA結合モチーフを含む潜在的なペプチド配列を同定し得る。同定されたペプチドは、変更された多項式アルゴリズムを使用してスコアされ、特異的なHLAクラスI対立遺伝子またはクラスII対立遺伝子を結合するそれらペプチドの能力を予測し得る。当業者に理解されるように、コンピュータプログラミングソフトウェアおよびハードウェアオプションの大きなアレイが、（例えば、限定されず、エピトープを同定するか、1つのペプチド長あたりのエピトープ集中（concentration）を同定するか、またはアナログを生成するため）公知または未知のペプチド配列を評価するため、本発明のモチーフを実行する（implement）ために使用され得る関連する技術が利用可能である。

#### 【0139】

上記の手順に従って、HLAスーパータイプ群または対立遺伝子特異的HLA分子を結合し得るHCVペプチドエピトープおよびそのアナログが、同定された（表VII-X；表XXII）。

#### 【0140】

（IV. H. ペプチドエピトープの調製）

本発明に従ったペプチドは、組換えDNA技術または化学合成により、あるいは天然の供給源（例えば、ネイティブな腫瘍または病原性生物）から合成的に調製され得る。ペプチドエピトープは、個々に合成され得るか、またはポリエピトープペプチドとして合成され得る。このペプチドは、好ましくは、実質的に他の天然に存在する宿主タンパク質およびそのタンパク質のフラグメントを含まないが、いくつかの実施形態において、このペプチドは、ネイティブなフラグメントまたは粒子に合成的に結合体化され得る。

#### 【0141】

本発明に従ったペプチドは、種々の長さであり得、そして、それらの中和（荷電していない）形態または塩の形態のいずれかであり得る。本発明に従う、ペプチドは、改変（例えば、グリコシル化、側鎖の酸化、またはリン酸化）されていないか；またはこのペプチドがこれらの改変を含み、本明細書中に記載されるように、ペプチドの生物学的活性を破壊しない条件に供される。

#### 【0142】

本発明のペプチドは、広範な種々の方法において調製され得る。好ましい、比較的短いサイズについて、このペプチドが、従来の技術に従って、溶液中または固体支持体上で合成され得る。種々の自動合成装置が市販され、そして公知のプロトコルに従って使用され得る（例えば、Stewart & Young, SOLID PHASE PEPTIDE SYNTHESIS, 2D. ED., Pierce Chemical Co., 1984を参照のこと）。さらに、個々のペプチドエピトープが、化学的連結を使用して結合され、本発明の範囲内になおある、より大きいペプチドを産生し得る。

#### 【0143】

あるいは、組換えDNA技術が利用され得、ここで、目的の免疫原性ペプチドをコードするヌクレオチド配列が、発現ベクター中に挿入されるか、適切な宿主細胞に、形質転換されるかまたはトランスフェクトされて、そして発現のための適切な条件下で培養される。これらの手順は、一般に当該分野で公知であり、Sambrookら、MOLECULAR CLONING, A LABORATORY MANUAL, Cold Spring Harbor Press,

Cold Spring Harbor, New York (1989) に一般に記載される。従って、本発明の1つ以上のペプチド配列を含む組換えポリペプチドが、適切なT細胞エピトープを提示するために使用され得る。

#### 【0144】

本明細書中で実行される好ましい長さのペプチドエピトープについての配列をコードするヌクレオチドが、化学的技術（例えば、Matteucciら、J. Am. Chem. Soc. 103:3185 (1981) のホスホトリエステル法）により合成され得る。ペプチドアナログは、ネイティブなペプチド配列をコードする塩基を適切かつ所望の核酸塩基に置換することにより、簡単に作製され得；例示的な核酸置換は、本明細書中のモチーフ／スーパーモチーフにより規定されるアミノ酸をコードする核酸置換である。次いで、このコード配列は、適切なリンカーを提供され得、そして当該分野で一般に利用可能な発現ベクター、および所望の融合タンパク質を産生するために適切な宿主を形質転換するために使用されるベクターに連結され得る。多数のこのようなベクターおよび適切な宿主系が、現在利用可能である。融合タンパク質の発現のために、コード配列は、作動可能に連結される開始コドンおよび停止コドン、プロモーター領域およびターミネーター領域ならびに所望の細胞性宿主における発現のための発現ベクターを提供する通常の複製系を提供される。例えば、細菌性宿主と互換性のあるプロモーター配列が、所望のコード配列の挿入のための都合の良い制限部位を含むプラスミドに提供される。得られた発現ベクターは、適切な細菌性宿主に形質転換される。もちろん、酵母細胞宿主、昆虫細胞宿主または哺乳動物細胞宿主もまた、適切なベクターおよびコントロール配列を使用して、使用され得る。

#### 【0145】

ネイティブなタンパク質の免疫学的活性の全てをなお実質的に維持しながら、ペプチドエピトープは、可能な限り小さいことがしばしば好まれる。可能な場合、約8個～約13個のアミノ酸残基、好ましくは9個～10個のアミノ酸残基の長さに、本発明のHLAクラスI結合ペプチドエピトープを最適化することが所望され得る。HLAクラスII結合ペプチドエピトープは、約6～約30アミノ酸長の長さ、好ましくは約13個と約20個の残基との間に、最適化され得る。



好ましくは、ペプチドエピトープは、関連HLA分子に結合される、内因的にプロセスされた病原体由来ペプチドまたは腫瘍細胞ペプチドと、サイズにおいて等しいが、しかし、他の長さのペプチドの同定および調製もまた、本明細書中に記載される技術を使用して、実行され得る。

#### 【0146】

代替の実施形態において、本発明のペプチドが、ポリエピトープペプチドとして、またはポリエピトープペプチドをコードするミニ遺伝子として連結され得る。

#### 【0147】

別の実施形態において、高濃度のクラスIエピトープおよび／またはクラスIIエピトープを含むネイティブなペプチド領域を同定することが好まれる。このような配列は、一般に、この配列が1個のアミノ酸長あたりより多数のエピトープを含むことに基づいて、選択される。エピトープは、フレームシフトされた様式で存在し得ることが理解され、例えば、10個のアミノ酸長のペプチドは、2つの、アミノ酸長のエピトープおよび1つの、10アミノ酸長のエピトープを含み得；細胞内プロセシングに際して、各エピトープが、このようなペプチドの投与の際に、HLA分子により曝露され得、かつ結合され得る。このより大きい、好ましくは複数のエピトープのペプチドが、合成的に、または組換え的に、またはネイティブな供給源からの切断を介して生成され得る。

#### 【0148】

(IV. I. T細胞応答を検出するためのアッセイ)

一旦HLA結合ペプチドが同定されると、それらはT細胞応答を惹起する能力について試験され得る。モチーフ保有ペプチドの調製および評価は、PCT公開WO 94/20127およびWO 94/03205に記載される。簡潔に、特定の抗原由来のエピトープを含むペプチドが合成され、そして適切なHLAタンパク質に結合するそれらの能力について試験される。これらのアッセイは、放射ヨウ素標識された参照ペプチドの結合に関連して、精製されたHLAクラスI分子への本発明のペプチドの結合を評価する工程を包含する。あるいは、エンプティ（empty）クラスI分子（すなわち、そこにペプチドを欠く）を発現

する細胞は、免疫蛍光染色およびフロー微蛍光測定により、ペプチド結合について評価され得る。ペプチド結合を評価するために使用され得る他のアッセイとしては、ペプチド依存性クラス I アセンブリアッセイおよび／またはペプチド競合によるCTL認識の阻害が挙げられる。典型的に500 nMまたはそれより小さい親和性で、クラス I 分子に結合するこれらのペプチドは、さらに、感染した個体または免疫した個体由来のCTLに対する標的として機能するそれらの能力、および疾患に関連した選択された標的細胞と反応し得るCTL集団を生じる1次のインビトロまたはインビボCTL応答を誘導し得るそれらの能力について評価される。対応するアッセイは、HLAクラス II 結合ペプチドの評価のために使用される。典型的に1000 nMまたはそれより低い親和性で結合することが示されるHLAクラス II モチーフ保有ペプチドは、さらに、CTL応答を刺激する能力について評価される。

#### 【0149】

T細胞応答を検出するために利用される従来のアッセイとしては、増幅アッセイ、リンホカイン分泌アッセイ、直接的細胞傷害性アッセイ、および限界希釈アッセイが挙げられる。例えば、ペプチドとともにインキュベートされる抗原提示細胞は、レスポンドー (responder) 細胞集団においてCTL応答を誘導する能力についてアッセイされ得る。抗原提示細胞は、通常の細胞 (例えば、末梢血単核細胞または樹状細胞) であり得る。あるいは、内部的でプロセシングされたペプチドでクラス I 分子を負荷 (load) するそれらの能力を欠失し、そして適切なヒトクラス I 遺伝子でトランスフェクトされた変異体非ヒト哺乳動物細胞株が、インビトロ1次CTL応答を誘導するペプチドの能力を試験するために使用され得る。

#### 【0150】

末梢血単核細胞 (PBMC) は、CTL前駆体のレスポンドー細胞供給源として使用され得る。適切な抗原提示細胞は、ペプチドとともにインキュベートされ、その後、ペプチド負荷された抗原提示細胞が、次いで、最適化された培養条件下でレスポンドー細胞集団とインキュベートされる。陽性CTL活性は、放射線標識された標的細胞 (特異的ペプチドパルス標的およびペプチド配列が由来する

抗原の内因的にプロセシングされた形態を発現する標的細胞の両方)を殺傷するCTLの存在について培養物をアッセイすることによって決定され得る。

#### 【0151】

より最近、フルオレセイン標識HLAテトラマー複合体を用いて染色することによって、抗原特異的T細胞の直接的な定量を可能にする方法が考え出されている(Altman, J. D. ら, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:10330, 1993; Altman, J. D. ら, Science 274:94, 1996)。他の比較的最近の技術的な発達は、細胞内リンホカインに対する染色、およびインターフェロン放出アッセイまたはELISPOTアッセイを含む。テトラマー染色、細胞内リンホカイン染色およびELISPOTアッセイは、全て、より従来のアッセイより少なくとも10倍感度が高いようである(Lalvani, A. ら, J. Exp. Med. 186:859, 1997; Dunbar, P. R. ら, Curr. Biol. 8:413, 1998; Murali-Krishna, K. ら, Immunity 8:177, 1998)。

#### 【0152】

HLT活性化もまた、T細胞増殖およびリンホカイン(例えば、IL-2)の分泌のような、当業者に公知のこのような技術を使用して評価され得る(例えば、Alexander ら, Immunity 1:751-761, 1994を参照のこと)。

#### 【0153】

あるいは、HLAトランスジェニックマウスの免疫化が、ペプチドエピトープの免疫原性を決定するために使用され得る。ヒトA2.1対立遺伝子、ヒトA1.1対立遺伝子(これらは、HLA-A3エピトープを分析するためにさらに使用され得る)、およびヒトB7対立遺伝子を有するマウスを含むいくつかのトランスジェニックマウスモデルが特徴付けられ、そして他のもの(例えば、HLA-A1およびA24についてのトランスジェニックマウス)が開発されている。HLA-DR1およびHLA-DR3マウスモデルもまた、開発されている。他のHLA対立遺伝子を有するさらなるトランスジェニックマウスモデルが、必要な

らば作製され得る。マウスは、不完全フロイントアジュバント中に乳化されたペプチドで免疫化され得、そして生じたT細胞を、ペプチドパルスされた標的細胞および適切な遺伝子でトランスフェクトされた標的細胞を認識するそれらの能力について試験した。CTL応答が上記の細胞傷害性アッセイを使用して分析され得る。同様に、HTL応答が、T細胞増殖またはリンホカインの分泌のようなアッセイを使用して分析され得る。

#### 【0154】

例示的な免疫原性ペプチドエピトープが、表X X I I Iに記載される。

#### 【0155】

(I V. J. 診断薬剤としての、および免疫応答を評価するためのペプチドエピトープの使用)

本発明の1つの実施形態において、本明細書中に記載されるHLAクラスIおよびクラスII結合ペプチドは、免疫応答を評価するための試薬として使用される。評価される免疫応答は、免疫源として任意の薬剤を使用することによって誘導され得、この任意の薬剤は、試薬として使用されるペプチドエピトープ（単数または複数）を認識しそしてそれに結合する、抗原特異的CTLまたはHTLを産生を生じ得る。このペプチド試薬は、免疫原として使用される必要がない。このような分析について使用され得るアッセイ系は、比較的最近の技術開発（例えば、テトラマー、細胞内リホカインについての染色およびインターフェロン放出アッセイ、またはELISPOTアッセイ）を含む。

#### 【0156】

例えば、本発明のペプチドは、腫瘍細胞抗原または免疫原への暴露に続いて、抗原特異的CTLの存在について末梢血単核細胞を評価するためのテトラマー染色アッセイにおいて使用され得る。HLA-テトラマー複合体は、抗原特異的CTLを直接可視化するために使用され（例えば、Oggら、Science 279:2103-2106, 1998; およびAltmanら、Science 274:94-96, 1996）、そして末梢血単核細胞のサンプル中における抗原特異的CTL集団の頻度を決定する。本発明のペプチドを使用するテトラマー試薬は、以下のように生成され得る：HLA分子に結合するペプチドを対応

するHLA重鎖および $\beta_2$ -ミクログロブリンの存在下でリフォールディングして、3分子複合体を生成する。この複合体は、以前にタンパク質に操作された部位で重鎖のカルボキシル末端でビオチン化される。テトラマー形成が、次いで、ストレプトマイシンの添加によって誘導される。蛍光標識されたストレプトアビジンによって、このテトラマーは、抗原特異的細胞を染色するために使用され得る。これらの細胞が、次いで、例えば、フローサイトメトリーによって同定され得る。このような分析は、診断目的または予後目的のために使用され得る。この手順によって同定された細胞はまた、治療目的のために使用され得る。

#### 【0157】

本発明のペプチドはまた、免疫リコール (recall) 応答を評価するための試薬として使用され得る。(例えば、Bertoniら, J. Clin. Invest. 100:503-513, 1997およびPennaら, J. Exp. Med. 174:1565-1570, 1991を参照のこと)。例えば、HCV感染した個体由来の患者PBMCサンプルは、特定のペプチドを使用して抗原特異的CTLまたはHTLの存在について分析され得る。単核細胞を含む血液サンプルが、PBMCを培養し、そして本発明のペプチドで細胞を刺激することによって評価され得る。適切な培養期間の後、拡大した細胞集団が、例えば、細胞傷害活性 (CTL) またはHTL活性について分析され得る。

#### 【0158】

このペプチドはまた、ワクチンの効力を評価するための試薬として使用され得る。免疫原とともにワクチン接種された患者から得られたPBMCは、例えば、上記の方法のいずれかを使用して分析され得る。患者は、HLA型であり、そしてその患者に存在する対立遺伝子特異的分子を認識するペプチドエピトープ試薬が分析のために選択される。ワクチンの免疫原性は、PBMCサンプル中のエピトープ特異的CTLおよび/またはHTLの存在によって示される。

#### 【0159】

本発明のペプチドはまた、当該分野で周知の技術を使用して、抗体を作製するために使用され得る (例えば、CURRENT PROTOCOLS IN IMMUNOLOGY, Wiley/Greene, NY; およびAntibod

ies A Laboratory Manual, Harlow and Lane, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989を参照のこと)、これらは、癌を診断またはモニターするための試薬として有用であり得る。このような抗体は、HLA分子の文脈においてペプチドを認識する抗体（すなわち、ペプチド-MHC複合体に結合する抗体）を含む。

#### 【0160】

##### (IV. K. ワクチン組成物)

ワクチンおよび本明細書中に記載されるような免疫原的に有効量の1つまたは1より多いペプチドを含むワクチンを調製する方法は、本発明のさらなる実施形態である。一旦適切に免疫原性ペプチドが規定されると、それらは、種々の手段によって識別され、そして送達され得、本明細書中で、「ワクチン」組成物といわれる。このようなワクチン組成物としては、例えば、リポペプチド（例えば、Vitello, A. ら, J. Clin. Invest. 95:341, 1995）、ポリ（DL-ラクチド-co-グリコリド）（「PLG」）マイクロスフィアにカプセル化されたペプチド組成物（例えば、Eldridge, ら, Molec. Immunol. 28:287-294, 1991; Alonso ら, Vaccine 12:299-306, 1994; Jones ら, Vaccine 13:675-681, 1995を参照のこと）、免疫刺激複合体（ISCMS）に含まれるペプチド組成物（例えば、Takahashi ら, Nature 344:873-875, 1990; Hu ら, Clin Exp Immunol. 113:235-243, 1998を参照のこと）、多重抗原ペプチド系（MAP）（例えば、Tam, J. P., Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 85:5409-5413, 1988; Tam, J. P., J Immunol. Methods 196:17-32, 1996を参照のこと）、ウイルス送達ベクター（Perkus, M. E. ら, Concepts in vaccine development, Kaufmann, S. H. E., 編, 379頁, 1996; Chakrabarti, S. ら, Nature 320:535, 1986; Hu, S. L. ら, Nature

320:537, 1986; Kienny, M. -P. ら, AIDS Biol/Technology 4:790, 1986; Top, F. H. ら, J. Infect. Dis. 124:148, 1971; Chanda, P. K. ら, Virology 175:535, 1990)、ウイルスまたは合成起源の粒子(例えば、Kofler, N. ら, J. Immunol. Methods. 192:25, 1996; Eldridge, J. H. ら, Sem. Hematol. 30:16, 1993; Fallo, L. D., Jr. ら, Nature Med. 7:649, 1995)、アジュバンド (Warren, H. S., Vogel, F. R., および Chedid, L. A. Annu. Rev. Immunol. 4:369, 1986; Gupta, R. K. ら, Vaccine 11:293, 1993)、リボソーム (Reddy, R. ら, J. Immunol. 148:1585, 1992; Rock, K. L., Immunol. Today 17:131, 1996)、あるいは、裸のcDNAまたは粒子吸収cDNA (Ulmer, J. B. ら, Science 259:1745, 1993; Robinson, H. L., Hunt, L. A., および Webster, R. G., Vaccine 11:957, 1993; Shiver, J. W. ら, Concepts in vaccine development, Kaufmann, S. H. E., 編, 423頁, 1996; Cease, K. B., および Berzofsky, J. A., Annu. Rev. Immunol. 12:923, 1994ならびに Eldridge, J. H. ら, Sem. Hematol. 30:16, 1993)が挙げられる。毒素標的化送達技術(レセプター媒介標的化としても公知であり、例えば、Avant Immunotherapeutics, Inc. (Needham, Massachusetts)の技術)もまた、使用され得る。

#### 【0161】

本発明のワクチンは、核酸媒介様式を含む。本発明のペプチドの1以上をコードするDNAまたはRNAもまた、患者に投与され得る。このアプローチは、例えば、Wolffら, Science 247:1465 (1990)ならびに米国特許第5,580,859号;同第5,589,466号;同第5,804

、566号；同第5,739,118号；同第5,736,524号；同第5,679,647号；WO 98/04720；および以下により詳細に記載される。DNAベースの送達技術の例には、「裸のDNA」、促進された（ブピバカイン（bupivacaine）、ポリマー、ペプチド媒介）送達、カチオン性脂質複合体、および粒子媒介送達（「遺伝子銃」）または圧力媒介送達（例えば、米国特許第5,922,687号を参照のこと）が挙げられる。

#### 【0162】

治療または予防免疫目的のために、本発明のペプチドはまた、ウイルスベクターまたは細菌ベクターによって発現され得る。発現ベクターの例としては、弱毒化ウイルス宿主（例えば、ワクチンまたは鶏痘）が挙げられる。このアプローチの例として、ワクシニアウイルスが、本発明のペプチドをコードするヌクレオチド配列を発現するためのベクターとして使用される。腫瘍を有する宿主への導入の際に、組換えワクシニアウイルスは、免疫原性ペプチドを発現し、そしてそれによって、宿主にCTLおよび／またはHTL応答を惹起させる。痘疹ベクターおよび免疫化プロトコルにおいて有用な方法は、例えば、米国特許第4,722,848号に記載される。別のベクターは、BCG（カルメット-ゲラン杆菌）である。BCGベクターは、Stoverら、Nature 351:456-460（1991）に記載される。本発明のペプチドの治療的投与または免疫化のために有用な広範な種々の他のベクター（例えば、アデノウイルスおよびアデノ随伴ウイルスのベクター、レトロウイルスベクター、Salmonella typhiベクター、解毒化炭疽毒素ベクターなど）は、本明細書中の説明から当業者に明らかである。

#### 【0163】

さらに、本発明に従うワクチンは、特許請求されたペプチドの1つ以上の組成物を包含する。ペプチドは、ワクチン中に、個々に存在し得る。あるいは、このペプチドは、同じペプチドの複数のコピーを含むホモポリマーとして、または種々のペプチドのヘテロポリマーとして存在し得る。ポリマーは、免疫学的反応の増加という利点を有し、そして異なるペプチドエピトープが、ポリマーを作り上げるために使用される場合、免疫応答について標的化された病原性生物または腫



瘍関連ペプチドの異なる抗原決定基と反応する抗体および／またはCTLを誘導するさらなる能力を有する。組成物は、抗原の天然に存在する領域であり得るか、または例えば、組換え的に、または化学合成によって調製され得る。

#### 【0164】

本発明のワクチンとともに使用されるキャリアは、当該分野で周知であり、そして例えば、サイログロブリン、ヒト血清アルブミンのようなアルブミン、破傷風トキソイド、ポリアミノ酸（例えば、ポリL-リジン、ポリL-グルタミン酸）、インフルエンザ、B型肝炎ウイルスコアタンパク質などが挙げられる。このワクチンは、生理学的に許容可能な（すなわち、受容可能な）希釈剤（例えば、水、または生理食塩水、好ましくはリン酸緩衝化生理食塩水）を含み得る。このワクチンはまた、代表的に、アジュバントを含む。不完全フロイントアジュバント、リン酸アルミニウム、水酸化アルミニウムまたはミョウバンのようなアジュバントは、当該分野で周知の材料の例である。さらに、本明細書中に記載されるように、CTL応答は、本発明のペプチドを脂質（例えば、トリパルミトイル-S-グリセリルシステイニルセリル-セリン（P<sub>3</sub>CSS））に結合することによってプライムされ得る。

#### 【0165】

注射、エアロゾル、経口、経皮、経粘膜、胸膜腔内、鞘内または他の適切な経路を介する、本発明に従うペプチド組成物を用いる免疫化の際に、宿主の免疫系は、所望の抗原に特異的な、多量のCTLおよび／またはHTLを生成することによって、ワクチンに応答する。その結果、この宿主は、後の感染に対して少なくとも部分的に免疫となるか、または進行中の慢性感染の発症に対して少なくとも部分的に耐性となるか、あるいは抗原が腫瘍関連である場合、少なくともいくつかの治療的利点を得る。

#### 【0166】

いくつかの実施形態において、クラスIペプチド成分を、目的の標的抗原、特にウイルスエンベロープ抗原への中和抗体応答を誘導するか、または促進する成分と組み合わせることが所望され得る。このような組成物の好ましい実施形態は、本発明に従うクラスIおよびクラスIIエピトープを含む。このような組成物

の代替の実施形態は、PADRE™ (Epimmune, San Diego, CA) 分子 (例えば、米国特許第5, 736, 142号に記載される) とともに、本発明に従うクラスIおよび/またはクラスIIエピトープを含む。

#### 【0167】

本発明のワクチンはまた、本発明のペプチドを提示するためのビヒクルとして、抗原提示細胞 (例えば、樹状細胞) を含み得る。ワクチン組成物は、樹状細胞の可動化および採取に続き、インビトロで作製され得、これによって、樹状細胞の負荷がインビトロで起こる。例えば、樹状細胞は、例えば、本発明に従うミニ遺伝子でトランスフェクトされる。次いで、この樹状細胞が、インビボで免疫応答を惹起するために、患者に投与され得る。

#### 【0168】

同様に、抗原性ペプチドが、エキソビボでCTLおよび/またはHTL応答を惹起するために使用される。得られるCTLまたはHTL細胞は、治療の他の従来の形態に应答しない、または本発明に従う治療的ワクチンペプチドまたは核酸に应答しない患者における腫瘍を処置するために使用され得る。特定の腫瘍関連抗原へのエキソビボCTLまたはHTL応答は、抗原提示細胞 (APC) (例えば、樹状細胞) の供給源とともに、患者の、または遺伝子的に適合性のCTLもしくはHLT前駆細胞、および適切な免疫原性ペプチドを、組織培養でインキュベートすることによって誘導され得る。前駆細胞が活性化され、そしてエフェクター細胞に拡張される適切なインキュベート時間 (代表的に、約7~28日間) の後、これらの細胞は、患者に注入して戻され、ここで、それらは、それらの特異的標的細胞 (感染した細胞または腫瘍細胞) を破壊する (CTL) か、またはこれらの破壊を促進する (HTL)。トランスフェクトされた樹状細胞または、抗原提示細胞として使用され得る。

#### 【0169】

本発明のワクチン組成物はまた、インターフェロナー $\alpha$ のような抗ウイルス薬剤、またはウイルス感染に対する他の処置と組み合わせて使用され得る。

#### 【0170】

好ましくは、ワクチンにおける使用のための多エピトープ性組成物において封

入のため、またはワクチンに含まれそして／またはミニ遺伝子のような核酸によってコードされる個別のエピトープを選択するためにエピトープのアレイを選択する場合、以下の原理が利用される。以下の原理の各々は、選択をなすために釣り合いを取ることが好ましい。所定のワクチン組成物に組込まれる複数のエピトープは、エピトープから誘導されるネイティブな抗原中の配列において連続であり得るが、その必要はない。

#### 【0171】

好ましくは、ワクチンにおける使用のための多エピトープ性組成物において封入のため、またはワクチンに含まれそして／またはミニ遺伝子のような核酸によってコードされる個別のエピトープを選択するためにエピトープのアレイを選択する場合、以下の原理が利用される。HCV感染を処置するか、または予防するためのワクチンにおいて利用され得る例示的なエピトープは、表XXVI～XXIX、および表XXXIIに記載される。以下の原理の各々は、選択をなすために釣り合いを取ることが好ましい。

#### 【0172】

1.) 投与の際、HCVクリアランスと相関されることが観測されている模倣免疫応答エピトープが選択される。HLAクラスIについて、これは、HCVの少なくとも1つの抗原由来の3～4エピトープを含む。HLAクラスIIについて、類似の原理が使用される；再び、3～4エピトープが、少なくとも1つのHCV抗原から選択される（例えば、Rosenbergら、Science 278:1447-1450を参照のこと）。

#### 【0173】

2.) 免疫原性を相関付けされるように確立された必要な結合親和性を有するエピトープが選択される：HLAクラスIについて、500 nMかまたはそれより小さいIC<sub>50</sub>、あるいはクラスIIについて、1000 nMかまたはそれより低いIC<sub>50</sub>。

#### 【0174】

3.) 十分なスーパーモチーフ保有ペプチド、または対立遺伝子特異的モチーフ保有ペプチドの十分なアレイが、広い集団適用範囲を与えるために選択される

。例えば、少なくとも80%の集団適用範囲を有することが好ましい。モンテカルロ分析（当該分野で公知の統計的評価）は、集団適用範囲の広がりまたは重複性を評価するために使用され得る。

#### 【0175】

4.) 癌関連抗原からエピトープを選択する場合、アナログを選択することが、しばしば好ましい。なぜなら、患者は、ネイティブのエピトープに対して発達した寛容性を有し得るからである。感染性疾患関連抗原についてのエピトープを選択する場合、ネイティブのエピトープまたはアナログエピトープのいずれかを選択することが好ましい。

#### 【0176】

5.) 「入れ子型 (nested) エピトープ」といわれるエピトープが特に適切である。入れ子型エピトープは、少なくとも2つのエピトープが所定のペプチド配列において重複する場合に生じる。入れ子型ペプチド配列は、HLAクラスIおよびHLAクラスIIの両方のエピトープを含み得る。入れ子型エピトープが提供される場合、提供された配列あたり最も大きな数のエピトープを有する配列を提供することが望ましい。好ましくは、ペプチドにおける、アミノ末端エピトープのアミノ末端およびカルボキシ末端エピトープのカルボキシル末端よりも長いペプチドを提供することが回避される。より長いペプチド配列（例えば、入れ子型エピトープを含む配列）が提供される場合、病理学的または他の有害な生物学的特性を有さないことを確実にするために配列をスクリーニングすることが重要である。

#### 【0177】

6.) 多エピトープ性タンパク質が作製される場合、またはミニ遺伝子を作製する場合、目的のエピトープを包含する最も小さなペプチドを作製することが目的である。この原理は、入れ子型エピトープを含むペプチドを選択する場合に使用されるものと同じでない場合に、類似する。しかし、人工の多エピトープ性ペプチドの場合、サイズを最小化する目的は、多エピトープ性タンパク質中のエピトープの間の任意のスペーサー配列を組込む必要性に対して釣り合いが取られる。スペーサーアミノ酸残基は、接合部エピトープ（免疫系によって認識されるが

、標的抗原に存在せず、そしてエピトープの人工並位 (man-made juxtaposition) によって作製されるのみのエピトープ) を回避するために、またはエピトープ間の切断を容易にし、それによってエピトープ提示を増強するために、導入され得る。接合部エピトープは、一般に、回避される、なぜなら、レシピエントは、非ネイティブエピトープに対する免疫応答を生成し得るからである。「優性エピトープ」である接合部エピトープが、特に関係する。優性エピトープは、他のエピトープに対する免疫応答が減少されるかまたは抑制される激しい (zealous) 応答を導き得る。

#### 【0178】

上の基準に基づいて設計される多エピトープ性ワクチン組成物の例としては、HCVポリタンパク質のコア、S、E1、NS1/E2、NS2、NS3、NS4、およびNS5ドメイン由来のエピトープが挙げられる。これらの領域は、プロタイプHCV-1株に対して番号付けを使用する以下のアミノ酸配列 (Genbank登録番号M62321；例えば、米国特許第5,683,864号および同第5,670,153号) を包含する：Cドメイン (アミノ酸1~120)；S (アミノ酸120~400)；NS3 (アミノ酸1050~1640)；NS4 (アミノ酸1640~2000)；NS5 (アミノ酸2000~3011)；およびエンベロープタンパク質E1およびE2/NS1 (アミノ酸192~750を含む)。アミノ酸750~1050は、本発明に適用されるように、ドメインXと命名される。当業者に理解されるように、各ドメインについてのアミノ酸の範囲の表示は、HCVの株に依存してHCV-1の範囲からある程度異なり得る。HCVポリタンパク質配列で見える場合、当業者は、ドメイン境界を容易に決定可能である。

#### 【0179】

本発明の多エピトープ性組成物の特定の実施形態は、薬学的に受容可能なキャリアおよびHCV-1のペプチドと免疫学的に交差反応性であるモチーフ保有ペプチドの組み合わせを含む薬学的組成物を含み、ここで、ペプチドの少なくとも1つは、表Iaのモチーフを保有し、さらにここで、モチーフ保有ペプチドの組み合わせは、以下からなる：a) HCV Cドメイン由来の少なくとも8アミノ

酸を含む1つ以上のペプチド；b) 以下からなる群から選択されるさらなるドメインの少なくとも8アミノ酸を含む1つ以上のペプチド：Sドメイン、NS3ドメイン、NS4ドメイン、またはNS5ドメイン、および；c) 必要に応じて、1つ以上のさらなるHCVドメイン由来の1つ以上のモチーフ保有ペプチド（ただし、さらなるドメインが「b」に列挙されるさらなるドメインではない）。好ましくは、このような薬学的組成物は、さらに、Xドメインの少なくとも8アミノ酸を含む1つ以上の個別のHCVモチーフ保有ペプチドを含み得るか、あるいはこの組成物はさらに、エンベロープドメイン由来であるさらなるHCVモチーフ保有ペプチドを含み得、このエンベロープドメインペプチドは、エンベロープドメインの少なくとも8アミノ酸を含む単一のHCVペプチドの1つ以上のコピーからなる。

#### 【0180】

別の実施形態において、多エピトープ性の薬学的組成物は、薬学的に受容可能なキャリアおよびHCV-1ペプチドと免疫学的に交差反応性であるモチーフ保有ペプチドの組み合わせを含み得、これらのペプチドは、HCVの複数のドメイン由来であり、ここで、これらのペプチドの少なくとも1つは、表Iaのモチーフを保有し、そしてここで、モチーフ保有ペプチドの組み合わせは、本質的に以下からなる：a) Cドメイン由来の少なくとも8アミノ酸を含む1つ以上のペプチド；およびb) S、NS3、NS4、またはNS5ドメイン由来の少なくとも8アミノ酸を含む1つ以上のペプチド、ならびにエンベロープドメインの少なくとも8アミノ酸を含む1つのHCVペプチド。このような組成物は、さらに、Xドメインの少なくとも8アミノ酸を含む1つ以上のHCVモチーフ保有ペプチドを含み得る。

#### 【0181】

あるいは、本発明の薬学的組成物は、以下を含み得る：a) 薬学的に受容可能なキャリア；および、b) 1つ以上のC型肝炎ウイルス（HCV）ドメイン由来の少なくとも8アミノ酸の1つ以上のモチーフ保有ペプチドの組み合わせであって、ここで、上記ペプチドは、HCV-1のペプチドと交差反応性であるが、ただし、組み合わせは、HCV Cドメイン由来の少なくとも8アミノ酸のペプチド

ドを含まず、そしてここで、これらのペプチドの少なくとも1つは、表I aのモチーフを保有し、上記ドメインは、Sドメイン；NS3ドメイン；NS4ドメイン；NS5ドメイン；および、Xドメインからなる群から選択される、モチーフ保有ペプチドの組み合わせ。このような組成物は、さらに、エンベロープドメインの少なくとも8アミノ酸を含む単一HCVペプチドの1つ以上のコピーからなるモチーフ保有HCVエンベロープペプチドを含み得る。

#### 【0182】

最後に、本発明の実施形態は、薬学的に受容可能なキャリアおよびHCV-1株の単一ドメイン由来の2つ以上のモチーフ保有ペプチドの組み合わせを含む薬学的組成物を含み得、上記ペプチドは、HCV-1抗原のペプチドと免疫学的に交差反応性であり、ここで、これらのペプチドの少なくとも1つは、表I aのモチーフを保有し、そしてこれらのペプチドは、HCV由来であり、そしてHCVドメインは、以下からなる群から選択される：Cドメイン；Sドメイン；NS3ドメイン；NS4ドメイン；NS5ドメイン；Xドメイン；または、単一HCV株由来のエンベロープドメイン。但し、エンベロープドメインは、可変エンベロープドメイン以外である。

#### 【0183】

記載される実施形態において、「HCV-1と免疫学的に交差反応性であるペプチド」とは、同じ抗体によって結合されたペプチドをいう；「由来の」とは、そのフラグメントまたは部分配列および保存的に改変された改変体をいう。

#### 【0184】

##### (IV. K. 1. ミニ遺伝子ワクチン)

複数のエピトープの同時送達を可能にする多くの異なるアプローチが利用可能である。本発明のペプチドをコードする核酸は、特に有用な、本発明の実施形態である。ミニ遺伝子の封入のためのエピトープは、好ましくは、前節に記載されるガイドラインに従って選択される。本発明のペプチドをコードする核酸を投与する好ましい手段は、本発明の1または複数のエピトープを含むペプチドをコードするミニ遺伝子構築物を使用する。

#### 【0185】

多重エピトープミニ遺伝子の使用は、以下および例えば、同時係属出願U. S. S. N. 09/311, 784; An, L. およびWhitton, J. L., J. Virol. 71:2292, 1997; Thomson, S. A. ら, J. Immunol. 157:822, 1996; Whitton, J. L. ら, J. Virol. 67:348, 1993; Hanke, R. ら, Vaccine 16:426, 1998に記載される。例えば、HCVポリタンパク質配列の複数の領域由来のスーパーモチーフ保有HCVエピトープおよび／またはモチーフ保有HCVエピトープをコードする多重エピトープDNAプラスミド、PADRE™ 万能 (universal) ヘルパーT細胞エピトープ (またはHCV由来の複数のHTLエピトープ)、および小胞体ー転位シグナル配列が操作され得る。

#### 【0186】

多重エピトープミニ遺伝子の免疫原性は、試験されるエピトープに対するCTL誘導応答の大きさを評価するために、トランスジェニックマウスにおいて試験され得る。さらに、インビボでのDNAコードエピトープの免疫原性は、DNAプラスミドでトランスフェクトされた標的細胞に対する特定のCTL株のインビトロ応答と相関され得る。従って、これらの実験は、ミニ遺伝子が、1.) CTL応答を生成すること、そして2.) 誘導されたCTLが、コードされたエピトープを発現する細胞を認識することの両方に役立つということを示し得る。

#### 【0187】

例えば、ヒト細胞における発現のための選択されたエピトープ (ミニ遺伝子) をコードするDNA配列を作製するために、これらのエピトープのアミノ酸配列を逆転写し得る。ヒトコドン使用頻度表を使用して、各アミノ酸についてのコドン選択を導き得る。これらのエピトープコードDNA配列は、翻訳された場合に、連続的なポリペプチド配列が作製されるように、直接的に隣接され得る。発現および／または免疫原性を最適化するために、さらなるエレメントが、そのミニ遺伝子設計に組み込まれ得る。逆転写され得、そしてそのミニ遺伝子配列に含まれ得るアミノ酸配列の例としては、以下が挙げられる：HLAクラスIエピトープ、HLAクラスIIエピトープ、ユビキチン化シグナル配列および／または小



胞体ターゲッティングシグナル。さらに、CTLエピトープおよびHTLエピトープのHLA提示は、そのCTLエピトープまたはHTLエピトープに隣接する、合成の（例えば、ポリアラニン）または天然に存在する隣接配列を含むことによって改変され得；そのエピトープを含むこれらのより大きいペプチドは、本発明の範囲内にある。

#### 【0188】

ミニ遺伝子配列は、ミニ遺伝子の+鎖および-鎖をコードするオリゴヌクレオチドをアセンブルすることによってDNAに変換され得る。重複オリゴヌクレオチド（30～100塩基長）が、周知技術を使用して適切な条件下で、合成、リン酸化、精製およびアニリングされ得る。これらのオリゴヌクレオチドの末端は、例えば、T4 DNAリガーゼを使用して連結され得る。次いで、エピトープポリペプチドをコードする、この合成ミニ遺伝子は、所望の発現ベクターにクローニングされ得る。

#### 【0189】

好ましくは、当業者に周知の標準的な調節配列が、標的細胞における発現を確実にするためにベクターに含まれる。以下のいくつかのベクターエレメントが所望される：ミニ遺伝子挿入物のための下流クローニング部位を含むプロモーター；効率的な転写終結のためのポリアデニル化シグナル；E. coli複製起点；およびE. coli選択マーカー（例えば、アンピシリン耐性またはカナマイシン耐性）。多くのプロモーター（例えば、ヒトサイトメガロウイルス（hCMV）プロモーター）が、この目的に使用され得る。他の適切なプロモーター配列については、例えば、米国特許第5,580,859号および米国特許第5,598,466号を参照のこと。

#### 【0190】

さらなるベクター改変が、ミニ遺伝子の発現および免疫原性を最適化するために所望され得る。いくつかの場合において、イントロンが、効率的な遺伝子発現に必要とされ、そして1以上の合成イントロンまたは天然に存在するイントロンが、ミニ遺伝子の転写される領域に組み込まれ得る。mRNA安定化配列および哺乳動物細胞における複製のための配列の包含もまた、ミニ遺伝子発現を増大す

るために考慮され得る。

#### 【0191】

一旦、発現ベクターを選択すると、ミニ遺伝子を、プロモーターの下流のポリリンカー領域内にクローニングする。このプラスミドを、適切な *E. coli* 株に形質転換し、そしてDNAを、標準的な技術を使用して調製する。ミニ遺伝子の方向およびDNA配列、ならびにベクターに含まれる他の全てのエレメントは、制限マッピングおよびDNA配列分析を使用して確認される。正しいプラスミドを保有する細菌細胞は、マスター (master) 細胞バンクおよびワーキング (working) 細胞バンクとして保存される。

#### 【0192】

さらに、免疫刺激配列 (ISSまたはCpG) は、DNAワクチンの免疫原性において役割を果たすようである。これらの配列は、免疫原性の増強が所望される場合に、そのベクター中のミニ遺伝子コード配列の外側に含まれ得る。

#### 【0193】

いくつかの実施形態において、ミニ遺伝子コードエピトープおよび第2のタンパク質 (免疫原性を増強または減少するために含まれる) の両方の産生を可能にする、二シストロン性 (bicistronic) 発現ベクターが使用され得る。同時発現される場合に免疫応答を有利に増強し得るタンパク質またはポリペプチドの例としては、サイトカイン (例えば、IL-2、IL-12、GM-CSF)、サイトカイン誘導分子 (例えば、LeIF)、同時刺激分子、またはHTL応答について、汎DR結合 (pan-DR binding) タンパク質 (PADRE™、Epiimmune、San Diego、CA) が挙げられる。ヘルパー (HTL) エピトープは、細胞内ターゲティングシグナルに結合され得、そして発現されるCTLエピトープとは別々に発現され；これは、CTLエピトープとは異なる、HTLエピトープの細胞区画への指向を可能にする。必要ならば、これは、HLAクラスII経路へのHTLエピトープのより効率的な進入を促進し得、これによって、HTL誘導を改善する。HTL誘導またはCTL誘導とは対照的に、免疫抑制分子 (例えば、TGF- $\beta$ ) の同時発現によって免疫応答を特異的に減少することが、特定の疾患において有利であり得る。

## 【0194】

治療量のプラスミドDNAは、例えば、E. coli 中での発酵、その後の精製によって生成され得る。ワーキング細胞バンク由来のアリコートを使用して、培養培地に播種し、そして周知技術に従って、シェーカーフラスコまたはバイオリアクター中で飽和になるまで増殖させる。プラスミドDNAを、標準的なバイオ分離技術（例えば、QIAGEN, Inc. (Valencia, California) によって供給される固相陰イオン交換樹脂）を使用して精製し得る。必要ならば、スーパーコイルDNAを、ゲル電気泳動または他の方法を使用して、開環形態および線状形態から単離し得る。

## 【0195】

精製プラスミドDNAは、種々の処方物を使用して、注入用に調製され得る。これらの最も単純なものは、滅菌リン酸緩衝化生理食塩水（PBS）中での凍結乾燥化DNAの再構成である。このアプローチ（「裸のDNA」としても知られる）は、臨床試験において筋肉（IM）投与のために現在使用されている。ミニ遺伝子DNAワクチンの免疫治療効果を最大化するために、精製プラスミドDNAを処方するための代替的方法が望ましくあり得る。種々の方法が記載されており、そして新しい技術が利用可能になるかもしれない。カチオン性脂質もまた、処方物中で使用され得る（例えば、WO93/24640; ManninoおよびGould-Fogerite, BioTechniques 6(7):682(1988); 米国特許第5,279,833号; WO91/06309; およびFelgnerら, Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 84:7413(1987)に記載されるような）。さらに、糖脂質、紡錘型（fusogenic）のリボソーム、ペプチドおよび化合物（まとめて、保護的、相互作用的、非凝縮化合物（PINC）と呼ばれる）もまた、精製プラスミドDNAに複合体化され得、安定性、筋肉分散、または特定の器官または細胞型に対する輸送のような変数に影響する。

## 【0196】

標的細胞の感作が、ミニ遺伝子コードCTLエピトープの発現およびHLAクラスI提示についての機能的アッセイとして使用され得る。例えば、プラスミド

DNAが、標準的なCTLクロム放出アッセイについての標的として適切である哺乳動物細胞株に導入される。使用されるトランスフェクション方法は、最終処方物に依存する。エレクトロポレーションは、「裸の」DNAのために使用され得、一方、カチオン性脂質が、直接的なインビトロトランスフェクションを可能にする。グリーン蛍光タンパク質（GFP）を発現するプラスミドを同時トランスフェクトして、蛍光標示式細胞分取（FACS）を使用する、トランスフェクトした細胞の富化を可能にし得る。次いで、これらの細胞を、クロム51（ $^{51}\text{Cr}$ ）標識し、そしてエピトープ特異的CTL株についての標的細胞として使用し； $^{51}\text{Cr}$ 放出によって検出される細胞溶解が、ミニ遺伝子コードCTLエピトープの産生およびHLA提示の両方を示す。HTLエピトープの発現は、HTL活性を評価するためのアッセイを使用して、類似の様式で評価され得る。

#### 【0197】

インビボ免疫原性は、ミニ遺伝子DNA処方物の機能的試験のための第2のアプローチである。適切なヒトHLAタンパク質を発現するトランスジェニックマウスを、このDNA産物で免疫する。投与の用量および経路は、処方物依存性である（例えば、PBS中のDNAについてはIM、脂質複合体化DNAについては腹腔内（IP））。免疫後21日で、脾細胞を収集し、試験する各エピトープをコードするペプチドの存在下で1週間再刺激する。その後、CTLエフェクター細胞について、標準的な技術を使用して、ペプチドがロードされた $^{51}\text{Cr}$ 標識標的細胞の細胞溶解についてのアッセイを行う。ペプチドエピトープ（ミニ遺伝子コードエピトープに対応する）でロードされたHLAによって感作された標的細胞の溶解は、CTLのインビボ誘導についてのDNAワクチン機能を実証する。HTLエピトープの免疫原性は、類似の様式でトランスジェニックマウスにおいて評価される。

#### 【0198】

あるいは、核酸は、例えば、米国特許第5,204,253号に記載されるような、銃式（ballistic）送達を使用して投与され得る。この技術を使用して、DNAのみから構成される粒子が投与される。さらなる代替的实施形態において、DNAは、粒子（例えば、金粒子）に接着され得る。

## 【0199】

## (IV. K. 2. CTLペプチドとヘルパーペプチドとの組合わせ)

免疫刺激活性を有する、本発明のペプチドまたはそのアナログを含むワクチン組成物は、所望の特性（例えば、改善された血清半減期）を提供するように、または免疫原性を増強するように改変され得る。

## 【0200】

例えば、CTL活性を誘導するペプチドの能力は、Tヘルパー細胞応答を誘導し得る少なくとも1つのエピトープを含む配列にペプチドを連結させることによって増強され得る。免疫原性を増強するためのCTLエピトープと組み合わせたTヘルパーエピトープの使用は、例えば、同時係属中の米国特許出願第08/820360号、米国特許出願第08/197,484号、および米国特許出願第08/464,234号に例示される。

## 【0201】

特に好ましいCTLエピトープ/HTLエピトープ結合体は、スペーサー分子によって連結される。スペーサーは、代表的に、比較的小さい、中性の分子（例えば、アミノ酸またはアミノ酸模倣物）からなり、これらは、生理学的条件下で実質的に非荷電性である。スペーサーは、代表的に、例えば、Ala、Glyあるいは非極性アミノ酸または中性極性アミノ酸の他の中性スペーサーから選択される。任意に存在するスペーサーは、必ずしも同じ残基からなる必要はなく、従って、ヘテロオリゴマーであっても、ホモオリゴマーであってもよいことが理解される。存在する場合、スペーサーは、通常、少なくとも1残基または2残基であり、より通常は、3～6残基である。あるいは、CTLペプチドは、スペーサーなしでTヘルパーペプチドに連結され得る。

## 【0202】

CTLペプチドエピトープは、Tヘルパーペプチドエピトープに直接連結され得るが、しばしば、CTLエピトープ/HTLエピトープ結合体は、スペーサー分子に連結される。スペーサーは、代表的に、比較的小さい、中性の分子（例えば、アミノ酸またはアミノ酸模倣物）からなり、これらは、生理学的条件下で実質的に非荷電性である。スペーサーは、代表的に、例えば、Ala、Glyある

いは非極性アミノ酸または中性極性アミノ酸の他の中性スペーサーから選択される。任意に存在するスペーサーは、必ずしも同じ残基からなる必要はなく、従って、ヘテロオリゴマーであっても、ホモオリゴマーであってもよいことが理解される。存在する場合、スペーサーは、通常、少なくとも1残基または2残基であり、より通常は、3～6残基である。CTLペプチドエピトープは、CTLペプチドのアミノ末端またはカルボキシ末端のいずれかで、直接的にかまたはスペーサーを介してかのいずれかで、Tヘルパーペプチドエピトープに連結され得る。免疫原性ペプチドまたはTヘルパーペプチドのいずれかのアミノ末端は、アシル化され得る。

#### 【0203】

HTLペプチドエピトープはまた、それらの生物学的特性を変更するために改変され得る。例えば、HTLエピトープを含むペプチドは、D-アミノ酸を含み、プロテアーゼに対するそれらの耐性を増加し得、従って、それらの血清半減期を伸ばし得る。また、本発明のエピトープペプチドは、他の分子（例えば、脂質、タンパク質または糖、あるいは任意の他の合成化合物）に結合体化され得、それらの生物学的活性を増加する。詳細には、Tヘルパーペプチドは、アミノ末端またはカルボキシル末端のいずれかで1以上のパルミチン酸鎖に結合体化され得る。

#### 【0204】

特定の実施形態において、Tヘルパーペプチドは、その集団の大部分で存在するTヘルパー細胞によって認識されるペプチドである。これは、多くの、ほとんどの、または全てのHLAクラスII分子に結合するアミノ酸配列を選択することによって達成され得る。これらは、「大まかなHLA拘束」または「不規則な」Tヘルパー配列として知られる。不規則なアミノ酸配列の例としては、以下のような抗原由来の配列が挙げられる：破傷風トキソイドの830～843位（QYIKANSKFIGITE）、*Plasmodium falciparum* CSタンパク質の378～398位（DIEKKIAKMEKASSVFNVNS）および*Streptococcus* 18kDタンパク質の116位（GAVDSILGGVATYGAA）。他の例としては、DR 1-4-7スー

パーモチーフ、またはDR3モチーフのいずれかを保有するペプチドが挙げられる。

#### 【0205】

あるいは、天然に見い出されないアミノ酸配列を使用して、大まかなHLA拘束様式で、Tヘルパーリンパ球を刺激し得る合成ペプチドを調製し得る（例えば、PCT公開WO95/07707を参照のこと）。汎DR結合（pan-DR binding）エпитープと呼ばれるこれらの合成化合物（例えば、PADRE<sup>TM</sup>、Epimmune, Inc., San Diego, CA）は、最も好ましくは、ほとんどのHLA-DR（ヒトHLAクラスII）分子を結合するように設計される。例えば、式：aKXVWANTLKAAa（ここで、「X」は、シクロヘキシルアラニン、フェニルアラニンまたはチロシンのいずれかであり、そしてaは、D-アラニンまたはL-アラニンのいずれかである）を有する、汎DR結合エпитープペプチドは、ほとんどのHLA-DR対立遺伝子に結合し、そしてほとんどの個体由来（それらのHLA型に拘わらず）のTヘルパーリンパ球の応答を刺激することが見い出されている。汎DR結合エпитープの代替物は、全て「L」天然アミノ酸を含み、そしてこのエпитープをコードする核酸の形態で提供され得る。

#### 【0206】

いくつかの実施形態において、本発明の薬学的組成物中に、細胞傷害性Tリンパ球をプライムする少なくとも1つの成分を含むことが望ましくあり得る。脂質は、ウイルス抗原に対してCTLをインビボでプライムし得る因子として同定されている。例えば、パルミチン酸残基は、リジン残基のε-アミノ基およびα-アミノ基に結合され得、次いで、例えば、Gly、Gly-Gly、Ser、Ser-Serなどのような1以上の連結残基を介して、免疫原性ペプチドに連結され得る。次いで、この脂質化ペプチドは、ミセルまたは粒子のいずれかで直接的に投与され得るか、リボソーム内に組み込まれ得るか、またはアジュバント（例えば、不完全フロイントアジュバント）中で乳化され得る。好ましい実施形態において、特に効果的な免疫原性ペプチドは、Lysのε-アミノ基およびα-アミノ基に結合されたパルミチン酸を含み、これは、その免疫原性ペプチドの

アミノ末端に連結（例えば、Ser-Ser）を介して結合される。

【0207】

CTL応答をプライムする脂質の別の例として、E. coli リポタンパク質（例えば、トリパルミトイル-S-グリセリルス테인シルセリル-セリン（P<sub>3</sub>CSS））が、適切なペプチドに共有結合された場合にウイルス特異的CTLをプライムするために使用され得る（例えば、Deresら、Nature 342:561、1989を参照のこと）。本発明のポリペプチドは、例えば、P<sub>3</sub>CSSに結合され得、そしてこのリポペプチドが、個体に投与され、標的抗原に対するCTL応答を特異的にプライムし得る。さらに、中和抗体の誘導もまた、P<sub>3</sub>CSS結合体化エピトープでプライムされ得るので、2つのこのような組成物を組み合わせて、感染に対する体液性応答および細胞性応答の両方をより効果的に誘発し得る。

【0208】

本明細書中に示されるように、さらなるアミノ酸がペプチドの末端に付加され、ペプチドの互いの容易な連結、キャリア支持体またはより大きいペプチドへの結合、ペプチドまたはオリゴペプチドの物理的特性または化学的特性の改変などを提供し得る。チロシン、システイン、リジン、グルタミン酸またはアスパラギン酸などのアミノ酸が、ペプチドまたはオリゴペプチド（特に、クラスIペプチド）のC末端またはN末端に導入され得る。しかし、いくつかの場合において、CTLエピトープのカルボキシル末端での改変は、ペプチドの結合特性を変更し得ることに留意すべきである。さらに、ペプチドまたはオリゴペプチド配列は、末端NH<sub>2</sub>アシル化（例えば、アルカノイル（C<sub>1</sub>~C<sub>20</sub>）アセチル化またはチオグリコリルアセチル化）、末端カルボキシルアミド化（例えば、アンモニア、メチルアミンなど）によって改変されることによって、天然の配列とは異なり得る。いくつかの例において、これらの改変は、支持体または他の分子に連結するための部位を提供し得る。

【0209】

（CTLペプチドおよび／またはHTLペプチドをパルスした樹状細胞を含むワクチン組成物）



本発明に従うワクチン組成物の実施形態は、患者の血液由来のP B M C（またはそこから単離されたD C）へのエピトープ保有ペプチドの混液のエキソピボ投与を包含する。D Cの収集を容易にするための医薬（例えば、G M - C S F / I L - 4）が使用され得る。ペプチドでのD Cのパルス後および患者への再注入の前に、D Cを洗浄し、結合されなかったペプチドを除去する。この実施形態において、ワクチンは、ペプチドをパルスしたD Cを含み、このペプチドをパルスしたD Cは、その表面上でH L A分子と複合体化された、そのパルスされたペプチドエピトープを提示する。次いで、このワクチンは、患者に投与される。

#### 【0210】

（I V . L . 治療目的または予防目的のためのワクチンの投与）

本発明のペプチドならびに本発明の薬学的組成物およびワクチン組成物は、H C V感染を処置および／または予防するための哺乳動物（特に、ヒト）への投与に有用である。本発明のペプチドを含むワクチン組成物は、H C Vに感染した患者、あるいはH C V感染に感受性の個体またはそうでなければH C V感染の危険性がある個体に投与され、H C V抗原に対する免疫応答を誘発し、従って、患者自身の免疫応答能力を増強する。治療適用において、ペプチド組成物および／または核酸組成物は、ウイルス抗原に対する効果的なC T Lおよび／またはH T L応答を誘発するのに、ならびに症状および／または合併症を治癒または少なくとも部分的に阻止または遅延するのに十分な量で患者に投与される。このことを達成するための十分な量は、「治療的有效用量」として定義される。この用途のために効果的な量は、例えば、投与される特定の組成物、投与の形態、処置される疾患の段階および重篤度、患者の体重および一般的な健康状態、ならびに処方する医師の判断に依存する。

#### 【0211】

本発明のワクチン組成物はまた、予防薬剤として純粋に使用され得る。一般に、初回の予防免疫のための用量は、一般に、単位投薬範囲にあり、低い値で、約1、5、50、500または1000  $\mu$  g、そして高い値で、約10,000；20,000；30,000；または50,000  $\mu$  gである。ヒトについての投薬値は、代表的に、70キログラム患者当たり、約500  $\mu$  g～約50,000

0  $\mu$ g の範囲である。これに続いて、約 1.0  $\mu$ g ~ 約 50,000  $\mu$ g の間のペプチドの投薬量で追加免疫する。このペプチドは、ワクチンの初回投与後、約 4 週間 ~ 6 ヶ月の規定された間隔で投与される。このワクチンの免疫原性は、患者の血液のサンプルから得た CTL および HTL の比活性を測定することによって評価され得る。

#### 【0212】

上記のように、本発明の CTL エピトープおよび/または HTL エピトープを含むペプチドは、HLA 分子によって提示され、そしてそのペプチドに含まれるエピトープに特異的な CTL または HTL を接触された場合に、免疫応答を誘発する。このペプチドが CTL または HTL を接触される様式は、本発明に重要ではない。例えば、このペプチドは、インビボまたはインビトロのいずれかで CTL または HTL を接触され得る。その接触がインビボで生じる場合、ペプチド自体が患者に投与され得るか、他のビヒクル（例えば、1 以上のペプチドをコードする DNA ベクター、ペプチドをコードするウイルスベクター、リポソームなど）が、本明細書に記載のように、使用され得る。ペプチドがインビトロで接触される場合、ワクチン接種薬剤は、細胞の集団（例えば、ペプチドをパルスした樹状細胞、TAA 特異的 CTL（これは、このペプチドをインビトロで抗原提示細胞にパルスすることによって誘導された））を含み得る。このような細胞集団は、その後、治療的有效用量で患者に投与される。

#### 【0213】

ペプチドまたはペプチドをコードする DNA は、個々で投与され得るか、または 1 以上のペプチド配列の融合体として投与され得る。

#### 【0214】

薬学的組成物のために、本発明の免疫原性ポリペプチド、またはそれらをコードする DNA は、一般に、HCV に既に感染した患者に投与される。これらのペプチドまたはそれらをコードする DNA は、個々で投与され得るか、または 1 以上のペプチド配列の融合体として投与され得る。感染の潜伏期または急性期にある個体は、それらの免疫原性ペプチドで別々に処置されるか、または他の処置と適切に組み合わせて処置され得る。

## 【0215】

治療の用途のために、投与は、一般に、HCV感染の最初の診断で開始すべきである。この後に、少なくとも症状が実質的に寛解されるまで、およびその後の期間の間で、追加免疫用量を行う。慢性感染において、負荷用量、その後の追加免疫用量が、必要とされ得る。

## 【0216】

本発明の組成物での感染した個体の処置は、急性に感染した固体における感染の消散を促進し得る。慢性感染の発症に感受性（または、その素因がある）の個体のために、これらの組成物は、急性から慢性の感染への進化を妨げるための方法において特に有用である。感受性の個体が、感染前または感染中に同定される場合、その組成物を、それらの個体に標的化し得、これにより、より大きい集団への投与の必要性を最小化する。

## 【0217】

HCV感染の処置または予防のために使用されるペプチドもしくは他の組成物が、例えば、疾患の明らかな症状を有しないが、疾患媒介者として作用するヒトにおいて使用され得る。この文脈において、細胞傷害性T細胞応答を有効的に刺激するのに十分な投与の様式により送達されるペプチドエピトープの一定量を提供することが一般的に重要であり、ヘルパーT細胞応答を刺激する組成物もまた、本発明のこの実施形態に従って与えられ得る。

## 【0218】

初期の治療的免疫化のための投薬量は、単位投薬量範囲において一般的に生じ、ここで、そのより低い値は約1、5、50、500または1000  $\mu$ gであり、そしてより高い値は、約10,000；20,000；30,000；または50,000  $\mu$ gである。ヒトに対する投薬量値は、代表的に、70kgの患者につき、約500  $\mu$ g～約50,000  $\mu$ gの範囲に渡る。数週間～数ヶ月に渡るブースト養生法に従う、約1.0  $\mu$ g～約50000  $\mu$ gの間のペプチドのブースター投薬量は、患者の血液から得られるCTLおよびHTLの比活性を測定することにより決定される患者の応答および状態に依存して投与され得る。本発明のペプチドおよび組成物は、重篤な疾患状態（すなわち、生命を脅かす状況ま

たは潜在的に生命を脅かす状況)において使用され得る。そのような場合において、本発明の好ましい組成物における最小量の外来基質および相対的非毒性のペプチドの結果として、これらの規定された投薬量に対して、実質的に過剰なこれらのペプチド組成物を投与することが可能であり、そして治療医師により所望されると感じられ得る。

#### 【0219】

従って、慢性感染の処置のために、代表的な用量は、上記の開示範囲内（すなわち、より低い値は約1、5、50、500または1000  $\mu$ gであり、そしてより高い値は、約10,000；20,000；30,000；または50,000  $\mu$ gであり、好ましくは、70kgの患者につき約500  $\mu$ g～約50,000  $\mu$ g）にある。初期用量に次いでブースター用量が、確立された間隔（例えば、4週間～6ヶ月）において、個体を有効的に免疫化するように延長された期間でおそらく必要とされ得る。慢性感染の場合において、投与は、少なくとも臨床的症状または実験室の試験が、そのウイルス感染が除去されるか、または実質的に無効にされることを示すまでおよびその後の一定期間の間継続すべきである。投薬量、投与経路および用量スケジュールは、当該分野において公知の方法論に従って調整される。

#### 【0220】

治療処置のための薬学的組成物は、非経口投与、局所的投与、経口投与、髄腔内投与または局所投与のために意図される。好ましくは、この薬学的組成物は、非経口的（例えば、静脈内、皮下、皮内、または筋肉内）に投与される。従って、本発明は、非経口投与のための組成物を提供し、この組成物は、受容可能なキャリア（好ましくは、水性キャリア）に溶解されているか、または懸濁されている免疫原性ペプチドの溶液を含む。種々の水性キャリア（例えば、水、緩衝化水、0.8%生理食塩水、0.3%グリシン、ヒアルロン酸など）が使用され得る。これらの組成物は、従来の周知の滅菌技術によって滅菌され得るか、または滅菌濾過され得る。得られた水溶液は、そのままもしくは凍結乾燥された状態での使用のために包装され得、凍結乾燥された調製物は、投与の前に滅菌溶液と合わせられる。これらの組成物は、生理学的状態に近づけるために必要とされる場

合、薬学的に受容可能な補助物質（例えば、pH調節剤および緩衝化剤、張度調節剤、湿潤剤、防腐剤など（例えば、酢酸ナトリウム、乳酸ナトリウム、塩化ナトリウム、塩化カリウム、塩化カルシウム、ソルビタンモノラウレート、トリエタノールアミンオレアートなど））を含み得る。

#### 【0221】

薬学的処方物中の本発明のペプチドの濃度は、広範に変動し得（すなわち、約0.1重量%未満（通常は約2重量%もしくは少なくとも約2重量%）から20重量%～50重量%以上と同程度まで）、そして選択された投与の特定様式に従って、主に流体容量、粘性などによって選択される。

#### 【0222】

ヒト単位用量形態のペプチド組成物は、ヒト単位用量の受容可能なキャリア、好ましくは水性キャリアを含む薬学的組成物内に代表的に含まれて、そしてヒトに対してそのような組成物を投与するために使用されることが当業者に公知である一定容量の流体において投与される（例えば、Remington's Pharmaceutical Sciences、第17版、A. Gennaro, Editor, Mack Publishing Co., Easton, Pennsylvania, 1985を参照のこと）。

#### 【0223】

本発明のペプチドはまた、リポソームを介して投与され得、このリポソームは、特定の組織（例えば、リンパ組織）に対してペプチドを標的とするためか、または感染細胞に対して選択的に標的とするため、およびペプチド組成物の半減期を増加するために役に立つ。リポソームとしては、エマルジョン、泡沫、ミセル、不溶性単分子膜、液晶、リン脂質分散系、ラメラ層（lamellar layer）などが挙げられる。これらの調製物において、送達されるべきペプチドは、単独でか、もしくはリンパ系細胞の一般的なレセプターと結合する分子（例えば、CD45抗原に結合するモノクローナル抗体）と共にか、または他の治療組成物もしくは免疫原性組成物と共にリポソームの一部として取り込まれる。従って、本発明の所望のペプチドで満たされているか、または装飾されているかのいずれかのリポソームは、リンパ系細胞の部位に指向され得、次いで、ここで、

そのリポソームは、そのペプチド組成物を送達する。本発明に従う使用のためのリポソームが、標準的なベシクル形成脂質から形成され、そのベシクル形成脂質としては、一般的に中性リン脂質および負電荷リン脂質ならびにステロール（例えば、コレステロール）が挙げられる。脂質の選択は、例えば、リポソームサイズ、血流におけるリポソームの酸不安定性および酸安定性を考慮して、一般的に導かれる。例えば、Szokaら、Ann. Rev. Biophys. Biophys. Bioeng. 9:467 (1980) および米国特許第4,235,871号、同第4,501,728号、同第4,837,028号、および同第5,019,369号に記載されるように、リポソームを調製するための種々の方法が利用可能である。

#### 【0224】

免疫系の細胞を標的とするために、リポソーム内に組み込まれるべきリガンドは、例えば、所望の免疫系細胞の細胞表面決定基に対して特異的な抗体またはそのフラグメントを含み得る。ペプチドを含むリポソーム懸濁物は、とりわけ、投与の様式、送達されるペプチド、および処置される疾患の段階に従って変動する用量において、静脈内に、局所に (locally)、局所的 (topically) などにおいて投与され得る。

#### 【0225】

固体組成物のために、従来の非毒性固体キャリアが使用され得、そのキャリアとしては、例えば、薬学的等級のマニトール、乳糖、デンプン、ステアリン酸マグネシウム、ナトリウムサッカリン、タルク、セルロース、グルコース、ショ糖、炭酸マグネシウムなどが挙げられる。経口投与のために、薬学的に受容可能な非毒性組成物は、通常使用される任意の賦形剤（例えば、上記に列挙されたそれらのキャリア）、および一般的に10～95%の活性成分（すなわち、本発明の1つ以上のペプチド、およびより好ましくは25%～75%の濃度にて）を取り込むことによって形成される。

#### 【0226】

エアロゾル投与のために、免疫原性ペプチドが、界面活性剤および噴霧剤と共に微細に分割された形態で好ましくは提供される。ペプチドの代表的な割合は、

0.01重量%～20重量%であり、好ましくは1重量%～10重量%である。この界面活性剤は、当然ながら、非毒性でなければならず、そして好ましくは、噴霧剤に可溶性である。そのような薬剤の代表的なものは、6～22個の炭素原子を含む、脂肪酸のエステルまたは部分エステル（例えば、脂肪族多水酸基アルコールまたはその環状無水物とカプロン酸、オクタン酸、ラウリル酸、パルミチン酸、ステアリン酸、リノール酸、リノレン酸、オレステリン（olesteric）酸およびオレイン酸との）である。混合エステル（例えば、混合グリセリドまたは天然グリセリド）が使用され得る。この界面活性剤は、組成物の0.1重量%～20重量%、好ましくは0.25～5重量%を構成し得る。組成物の残りは、通常、噴霧剤である。キャリアもまた、所望される場合、例えば、鼻腔内送達のためにレシチンと共に含まれ得る。

#### 【0227】

##### （IV. M. キット）

本発明のペプチドおよび核酸組成物は、ワクチン投与のための指示と共にキット中で提供され得る。代表的には、そのキットは、容器中の、好ましくは、単位用量形態の所望のペプチド組成物および投与についての指示書を含む。別のキットは、投与についての指示書と共に、好ましくは、単位用量形態で容器中に本発明の所望の核酸を有するミニ遺伝子構築物を含む。IL-2またはIL-12などのリンホカインはまた、そのキットに含まれ得る。また所望され得る他のキット構成成分としては、例えば、滅菌シリンジ、追加免疫用量、および他の所望の賦形剤が挙げられる。

#### 【0228】

本発明は、特定の実施例によってより詳細に記載される。以下の実施例は、例示的な目的について提供され、そして、いずれの方法においても本発明を制限することを意図するものではない。当業者は、本発明に従って、種々の重要でないパラメーターが、別の実施形態を生じるように変化され得るかまたは改変され得ることを容易に理解する。

#### 【0229】

##### （V. 実施例）

多数のウイルス疾患におけるように、HCVの除去がCTLによって媒介されるという証拠が存在する。6匹のチンパンジーにおける初期のHCV感染の研究において、4匹が慢性的感染へと進行した（Cooperら、要約、第19回日米肝炎共同パネルミーティング、1998年、1月27～29日）。これらの4匹の動物が、初期感染期間に、全くCTL応答を示さなかったか、または、非常に狭く集中した応答のいずれかを示したことを見出した。対照的に、感染を解決した残る2匹の動物では、広範なCTL応答が、複数のHCVタンパク質（そのいくつかは、保存されている）に対して観察された。Weinerら（Proc. Natl. Acad. Sci. USA 92:2755-2759, 1995）は、ウイルスエスケープ（そこで、エピトープが、変異したPATRクラスI分子に提示される）が、慢性的感染への進行に関して関連していることを示した。これらのデータは、HCV疾患の経過を方向付ける際、および持続的に感染した宿主におけるHCV種の遺伝的組成を決定する際の、CTLについての役割を示す。

#### 【0230】

ヒトにおける研究では、Koziełらが、慢性的なHCV感染を有する患者由来の肝浸潤におけるHCV特異的CTLの存在を確立し（Koziełら、J. Immunol. 149:3339, 1992；およびKoziełら、J. Virol. 67:7522, 1993）、そして、いくつかの異なったHLAクラスI分子の文脈で認識される多数のCTLエピトープをまた同定した。他の研究者らは、HCV特異的CTLが、慢性的なC型肝炎を有する患者の末梢血液において検出され得ることを示してきた（Cerryら、J. Clin. Invest. 95:521, 1995；Cernyら、Curr. Topics in Micro. and Immunol 189:169, 1994；Cernyら、Abst. 2<sup>nd</sup> International Meeting on Hepatitis C and Related Viruses；La Jolla CA, 1994；Battegayら、Abst. 2<sup>nd</sup> International Meeting on Hepatitis C and Related Viruses；La Jolla, CA, 1994；Shira



い、J. Virol. 68:3334, 1994; Shiraiら、J. Immunol. 154:2733, 1995; Battagayら、J. Virol. 69:2462, 1995)。さらに、エスケープ改変体が、慢性的にHCVに感染した患者において示されてきた (Changら、J. Clin. Invest. 100:2376-2385, 1997; Tsaiら、Gastroenterology 115:954-966, 1998)。

#### 【0231】

概して、HCV感染患者で観察されるCTL応答の規模は、慢性的なB型肝炎感染の場合に観察される応答よりも高く、このことは特定のT細胞免疫の障害は、HBV感染よりもより少ないことを示唆する。しかし、HCV患者におけるCTL応答の規模は、上手くHBV感染をクリアしたHBV感染個体で観察される規模よりも低い。これらの結果は、HCV感染患者が能動的な免疫治療に応答可能であるという理解を支持し、そして、HCVに対するT細胞の応答の相乗作用および増加は、慢性的なHCV感染の治療および予防において有用であり得る (Prince, A. M. FEMS Micro. Rev. 14:273, 1994)。

#### 【0232】

いくつかの集団が、疾患抵抗性および病原性におけるHCV特異的なCTL応答の潜在的役割を分析してきた。いくつかの研究において、個々のHCVエピトープについてCTLウイルス血症とCTL前駆体頻度との間の相関関係は全く見出されなかった (Rehermannら、J. Clin. Invest. 98:1432-1440, 1996; Wongら、J. Immunol. 160:1479-1488, 1998)。しかし、他の研究では、多数のCTLエピトープに対するグローバル応答を考慮するという条件で、HCV感染のレベルとCTL応答との間の明白な相互関係が存在することが示唆された (Rehermannら、J. Virol. 70:7092-7102, 1996)。これらのデータは、保存されたHCV由来のエピトープの多重度に対する種々のCTL応答を含み得るワクチン構築物の開発について強い理論的根拠を示す。

#### 【0233】

Koziełらは、曝露されるがしかし血清陰性の個体において、HCV特異的なCTLの存在およびTヘルパー細胞応答を示してきた(Koziełら、J. Infect. Diseases 176:859-866, 1997)。さらに、HCV特異的CTLは、慢性的にHCV感染患者の健康な血清陰性の家族メンバーにおいて検出され、このことは防御免疫が、検出可能な感染の非存在下で、確立されていることを示す(Bronowickiら、J. Infect. Dis. 176:518-522, 1997; Scognamiglioら、準備中)。

#### 【0234】

実験的な証拠はまた、HTLエピトープがHCV感染に対する免疫応答性および防御において重要な役割を果たすことを示す(Missaleら、J. Clin. Invest. 98:706-714, 1996)。Diepolderら(Lancet 346:1006, 1995)は、NS3遺伝子(NS3 1007-1534)の領域は、急性HCV感染をクリアする患者によって認識されるが、慢性的な感染を発症する患者によっては検出されないことを示す。続く研究は、この特定の領域が高度に交差反応性のHTLエピトープ(NS3 1248-1261)(そのエピトープは、試験された13DR分子の10に対して優れた親和性で結合する)を含むこと、そして、考慮される異なったHCV単離体の30/33において高度に保存されることを示した(Diepolderら、J. Virol. 71:6011-6019, 1997)。これらのデータは、この型のエピトープにHTL応答を指向すること(より交差反応性でないおよび/または高度に可変性のエピトープに対してではなく)は、治療的および予防的に有益であり、そして、HCVワクチン構築物において類似した特徴を有するこのエピトープまたは他のエピトープを含むことについて強く主張する。

#### 【0235】

以下の実施例は、ワクチン組成物に含むための免疫原性クラスIおよびクラスIIペプチドエピトープの同定、選択、および使用を例示する。

#### 【0236】

(実施例1:HLAクラスIおよびクラスII結合アッセイ)

H L A分子に結合するペプチドの以下の実施例は、H L Aクラス I およびクラス I I ペプチドの結合親和性の定量を示す。結合アッセイは、モチーフ保有であるかまたはモチーフ保有でないかのどちらかであるペプチドを使用して実施し得る。

#### 【0237】

エプスタインバーウイルス (E B V) で形質転換したホモ結合性細胞株、線維芽細胞、C I R、または721.22形質転換体を、H L Aクラス I 分子の供給源として使用する。M H Cクラス I およびクラス I I 分子の精製のために慣例的に使用される特定の細胞株を、表X X I Vに列挙する。開示されたプロトコル (S i d n e y ら、C u r r e n t P r o t o c o l s i n I m m u n o l o g y 18.3.1 (1998) ; S i d n e y ら、J. I m m u n o l. 154:247 (1995) ; S e t t e ら、M o l. I m m u n o l. 31:813 (1994) ) に従って、細胞溶解物を調製し、そして、H L A分子を精製した。H L A分子を、親和性クロマトグラフィーによって溶解物より精製した。その溶解物を適切な抗体に対して結合したセファロースC L - 4 Bビーズのカラムを通過させた。細胞溶解物からH L Aの抽出のために使用した抗体を、表X X Vに列挙する。次いで、抗H L Aカラムを10mM T r i s - H C L、p H 8.0を含む1%NP-40、P B S、および0.4%n-オクチルグルコシドを含むP B Sで洗浄し、そして、H L A分子を、50mMジエチルアミン含有0.15M N a C l (0.4%n-オクチルグルコシド含有) (p H 11.5) を使用して溶解した。2.0M T r i s、p H 6.8の1/25容量を溶出に加え、p Hを約8.0に低下させた。次いで、溶出物をC e n t r i p r e p 30コンセンレータ (A m i c o n, B e v e r l y, M A) で、遠心によって遠心分離した。タンパク質含量を、B C Aタンパク質アッセイ (P i e r c e C h e m i c a l C o., R i c k f o r d, I L) によって評価し、そして、S D S - P A G Eによって確認した。

#### 【0238】

クラス I およびクラス I I M H Cへのペプチドの結合を測定するために利用されるプロトコルの詳細な記載は、公開されている (S e t t e ら、M o l. I

mmunol. 31:813, 1994; Sidneyら、Current Protocols in Immunology, Margulies, Ed., John Wiley & Sons, New York, Section 18.3, 1998)。手短には、精製されたMHC分子(5~500 nM)を、プロテアーゼインヒビター反応溶液の存在下で、0.05% Nonidet P-40 (NP40)を含むPBS (またはH-2 IAアッセイのための20% w/v ジギトニン) 中で48時間、種々の未標識ペプチドインヒビターおよび1~10 nM<sup>125</sup>I 放射性標識プローブペプチドとインキュベートした。DRB1\*0301 (それは、pH 4.5で行なった) ならびにDRB1\*1601 (DR2w21β<sub>1</sub>) およびDRB4\*0101 (DRw53) (それはpH 5.0で実施した) を除き、全てのアッセイをpH 7.0で行なった。

#### 【0239】

インキュベーション後、MHC-ペプチド複合体を7.8 mm×15 cmのTSK200カラム (Toso Haas 16215, Montgomeryville, PA) 上のゲルろ過によって、遊離ペプチドから分離した。DRB1\*1501 (DR2w21β<sub>1</sub>) アッセイに使用された大きなサイズの放射性標識ペプチドは、このような条件下で未結合ピークから結合ピークを分離することがより難しいので、全てのDRB1\*1501 (DR2w21β<sub>1</sub>) アッセイを、0.6 ml/sで溶出する7.8 mm×30 cm TSK2000カラムを用いて実施した。TSKカラムからの溶出液を、Beckman 170放射性標識検出器を通過させ、そして、放射活性をプロットしそしてHewlett-Packard 3396Aインテグレーターを用いて積算し、そして結合したペプチドの画分を決定した。

#### 【0240】

放射性標識ペプチドを、クロラミンT法を用いてヨウ素化した。それぞれのアッセイおよびそのアッセイ特異的IC<sub>50</sub> nMにおいて利用される代表的な放射性標識プローブペプチドを、表IVおよびVに要約した。代表的には、予備実験において、MHC調製物の各々を、総放射活性の10~20%と結合するための必要なHLA分子の濃度を決定するために、固定量の放射性標識ペプチドの存在下

で測定した。続く全ての阻害および直接的結合アッセイを、これらのHLA濃度で行なった。

#### 【0241】

これらの条件 [標識] < [HLA] および  $[IC_{50}] \geq [HLA]$  下で、測定した  $IC_{50}$  値は、真の  $K_D$  値の合理的な近似値であった。ペプチドインヒビターは、代表的には、 $120 \mu g/ml$  から  $1.2 ng/ml$  までの範囲の濃度で試験し、そして、2～4の完全に独立した実験で試験した。異なった実験で獲得されたデータの比較を可能にするために、試験されたそれぞれのペプチドについての  $IC_{50}$  で、阻害についてのポジティブコントロール（代表的には、放射性標識プローブペプチドの未標識バージョン）の  $IC_{50}$  を割ることによって、それぞれのペプチドについて相対的な結合数値を計算する。データベース目的および実験間比較のために、相対結合値を編集した。これらの値は、目的のペプチドの相対結合で、阻害についてのポジティブコントロールの  $IC_{50} nM$  を割ることによって、 $IC_{50} nM$  値に引き続き変換し得る。データ編集のこの方法は最も正確であり、そして異なった日数で試験されたペプチドまたは異なったロットの精製MHCとの比較について一貫していることを証明する。

#### 【0242】

HLA-DR精製 (LB3.1) について使用される抗体は、 $\alpha$  鎖特異的であるため、 $\beta_1$  分子は、 $\beta_3$ （および／または  $\beta_4$  および  $\beta_5$ ）分子から分離されない。結合アッセイの  $\beta_1$  特異性は、DRB1\*0101 (DR1)、DRB1\*0802 (DR8w2)、およびDRB1\*0803 (DR8w3) の場合で明らかであるが、 $\beta_3$  は全く発現されない。DRB1\*0301 (DR3) およびDRB3\*0101 (DR52a)、DRB1\*0401 (DR4w4)、DRB1\*0404 (DR4w14)、DRB1\*0405 (DR4w15)、DRB1\*1101 (DR5)、DRB1\*1201 (DR5w12)、DRB1\*1302 (DR6w19) およびDRB1\*0701 (DR7) についてもまた示されてきた。DRB1\*1501 (DR2w2  $\beta_1$ )、DRB5\*0101 (DR2w2  $\beta_2$ )、DRB1\*1601 (DR2w21  $\beta_1$ )、DRB5\*0201 (DR51Dw21)、およびDRB4\*0101 (DRw53) アッセイについての  $\beta$  鎖特異性

の問題は、線維芽細胞の使用によって回避できる。DR  $\beta$  分子特異性に関するアッセイの開発および確証は、以前に記載されている（例えば、Southwoodら、J. Immunol. 160:3363-3373, 1998を参照のこと）。

#### 【0243】

上記に概略される結合アッセイを、例えば、実施例2に記載されるように、スーパーモチーフおよび／またはモチーフ保有エピトープを分析するために使用し得る。

#### 【0244】

（実施例2．保存されたHLAスーパーモチーフ保有CTL候補エピトープおよびモチーフ保有CTL候補エピトープの同定）

本発明のワクチン組成物は、広範な集団の適用範囲を達成するために、多数のHLAスーパーモチーフまたはモチーフを含む多数のエピトープを含み得る。この実施例は、そのようなワクチン組成物における封入についてのスーパーモチーフ保有エピトープおよびモチーフ保有エピトープの同定を例示する。集団適用範囲の計算を、以下に記載されるストラテジーを用いて実施した。

#### 【0245】

（スーパーモチーフおよび／またはモチーフ保有エピトープの同定のためのコンピュータサーチおよびアルゴリズム）

HLAクラスIのスーパーモチーフもしくはモチーフまたはHLAクラスIIのスーパーモチーフもしくはモチーフを保有するエピトープについてのコンピュータサーチを、以下のように行なった。全ての翻訳されたHCV単離配列を、適切なHLA結合モチーフを含む潜在的ペプチド配列を同定するために、テキストストリング（text string）サーチソフトウェアプログラム（例えば、MotifSearch1.4（D. Brown, San Diego））を用いて分析した；代替のプログラムは、本明細書中に開示されるモチーフ／スーパーモチーフを参照して、当該分野の情報に従って、容易に作製される。さらに、そのような計算は、頭の中で行なわれ得る。同定されたA2スーパーモチーフ配列、A3スーパーモチーフ配列、およびDRスーパーモチーフ配列を、特定

のHLAクラスI分子またはHLAクラスII分子に結合するそれらの能力を推定するための多項式アルゴリズムを用いて、スコアリングした。これらの多項式アルゴリズムは、伸長したモチーフおよび精製されたモチーフの両方を考慮し（すなわち、異なる位置での異なるアミノ酸の影響を考慮するために）、かつ以下の前提に基本的に基づく。この前提とは、ペプチドHLA分子相互作用の親和性全体（言い換えると $\Delta G$ ）は、以下の型の直線的な多項式関数：

$$[\Delta G] = a_{1i} \times a_{2i} \times a_{3i} \dots \times a_{ni}$$

として近似し得、ここで、 $a_{ji}$ は、 $n$ アミノ酸のペプチドの配列に沿って、所定の位置（ $i$ ）での所定のアミノ酸（ $j$ ）の存在効果を示す係数である。この方法の重要な仮説は、それぞれの位置での効果が互いに実質的に独立している（すなわち、個々の側鎖の独立した結合）ということである。残基 $j$ がペプチド中の位置 $i$ で生じる場合、定常量 $j_i$ が、ペプチドの残りの配列とは無関係なペプチドの結合の自由エネルギーに貢献することが想定される。この仮説は、ペプチドが実質的に伸長したコンフォメーションでMHCに結合しかつT細胞によって認識されることを示す本発明者らの研究室の研究（データは本明細書中に示されていない）によって正当化される。

#### 【0246】

特定のアルゴリズム係数の誘導法は、Gulukotaraら、J. Mol. Biol. 267:1258-126, 1997; (Sidneyら、Human Immunol. 45:79-93, 1996; およびSouthwoodら、J. Immunol. 160:3363-3373, 1998もまた参照のこと)に記載されている。手短には、全ての $i$ 位置について、アンカーおよび非アンカーも同様に、 $j$ を有する全てのペプチドの平均相対結合(ARB)の相乗平均を、集団の残りと比較して計算し、そして、 $j_i$ の推定値として使用した。クラスIIペプチドについて、多数のアライメントが可能な場合、反復手順に従って、最高のスコアリングのアライメントのみを利用した。試験セットにおける所定のポリペプチドのアルゴリズムスコアを計算するために、そのペプチドの配列に対応するARB値を乗算した。この積が選択される閾値を超える場合、そのペプチドは、結合することが推定される。適切な閾値を、所望される推定のストリン

ジェンシーの度合いの関数として選択する。

#### 【0247】

(HLA-A2スーパータイプ交差反応性ペプチドの選択)

14のHCV単離体由来の完全ポリタンパク質配列をアライメントし、次いで、HLA-A2スーパーモチーフの一次アンカー特異性を含む保存された9および10マーの配列を同定するために、モチーフ同定ソフトウェアを利用して、走査した。

#### 【0248】

全231の保存されたHLA-A2スーパーモチーフ陽性配列を同定した。次いで、これらのペプチドを、A\*0201特異的多項式アルゴリズムを用いてA\*0201の好ましい二次アンカー残基の存在について評価した。全67の保存されたモチーフ保有配列およびアルゴリズム陽性配列を同定した。

#### 【0249】

これらの保存されたモチーフ保有9または10マーのペプチドのうち50を、精製したHLA-A\*0201分子にインビトロで結合するそれらの能力について試験した(HLA-A\*0201は、表現型A2スーパータイプ分子と考えられる)。50~500nMの範囲で、16ペプチドが500nM以下のIC<sub>50</sub>値でA\*0201と結合し；4ペプチドが高い結合親和性を有し(50nM以下のIC<sub>50</sub>値)および12ペプチドが中間の結合親和性を有した(表XXVI)。

#### 【0250】

次いで、これらの16ペプチドは、さらなるA2スーパータイプ分子(A\*0202、A\*0203、A\*0206、およびA\*6802)への結合について試験した。表XXVIに示されるように、これらのペプチドの多くは、A2スーパータイプ交差反応性結合因子であることを検出した。より特定には、16ペプチドのうち12(75%)が、試験された5つのA2スーパータイプ分子の少なくとも3つに結合した。

#### 【0251】

(HLA-A3スーパーモチーフ保有エピトープの選択)

上記に走査された同じ14の公知のHCV単離体由来の配列をまた、HLA-



A3スーパーモチーフの一次アンカーを使用して、保存されたペプチドの存在について試験した。全71の保存された9または10マーのモチーフ保有配列を同定した。A03アルゴリズムおよびA11アルゴリズムを用いたさらなる分析（例えば、Gulukotaraら、J. Mol. Biol. 267:1258-1267, 1997およびSidneyら、Human Immunol. 45:79-93, 1996を参照のこと）は、アルゴリズムのどちらかまたは両方で高スコアである39配列を同定した。39ペプチド中の27を合成し、かつ2つの最も一般的なA3スーパータイプ分子であるHLA-A\*03およびHLA-A\*11への結合を試験した。500 nM以下の結合親和性で、A3および／またはA11と結合した15ペプチドを同定した（表XXVII）。次いで、これらのペプチドを、他の一般的なA3スーパータイプ対立遺伝子（A\*3101、A\*3301、およびA\*6801）に対する結合交差反応性について試験した。15ペプチドのうちの7つが、試験された5つのHLA-A3スーパータイプ分子の少なくとも3つに結合した。

#### 【0252】

独立した一連の実験の過程で（Kuboら、J. Immunol. 152:3913-3924, 1994）、1つのペプチド（HCV NS53 1262）（上記で利用された選択規準によって同定されない、なぜならA3スーパーモチーフの一次アンカー特異性を有さないからである）が、A\*03、A\*11、およびA\*68021と結合しA3スーパータイプにおいて交差反応性であると決定した。このペプチドはまた、表XXVIIに示す。興味深いことに、このペプチドは、ペプチド1073.14の単一の残基のN末端欠失を示す（これもまた、表XXVIIに示す）。

#### 【0253】

要約すると、HCVゲノムの保存領域に由来する3以上のA3スーパータイプ分子に結合する8ペプチドを同定した。

#### 【0254】

（HLA-B7スーパーモチーフ保有エピトープの選択）

同じ14のHCV単離体をまた、HLA-B7スーパーモチーフを有する保存

された9または10マーのペプチドの存在について試験した場合、35の配列が同定された。対応するペプチドを合成し、そして、最も一般的なB7スーパータイプ対立遺伝子（すなわち、B7スーパータイプ対立遺伝子体の原型）であるHLA-B\*0702に対する結合について試験した。13のペプチドが、500 nM以下のIC<sub>50</sub>でB\*0702と結合した（表XXVII Ia）。次いで、これらの13のペプチドを、他の一般的なB7スーパータイプ分子（B\*3501、B\*51、B\*5301、およびB\*5401）への結合について試験した。表XXVII Iaに示されるように、1つのペプチド（コア169）のみが、試験された5つのB7スーパータイプ対立遺伝子体のうちの3つ以上に結合可能であった。

#### 【0255】

さらなるB7スーパータイプエピトープを同定するために、さらなる研究を行った。上記で利用された14のHCV単離体由来のタンパク質配列を再び、保存されたモチーフ保有8および11マーを同定するために調査した。その単離体をまた、より低い保存性（51%～78%）を考慮に入れて9マーおよび10マー配列について調査した。25の8マー、16の11マー、および35の9および10マーを同定し、合成し、そして、B\*0702への結合について試験した。13のペプチドが、高いまたは中間の親和性（500 nM以下のIC<sub>50</sub>）で結合した（表XXVII Ib）。これらのペプチドを、他のB7スーパータイプ分子への結合についてさらにスクリーニングした。1つの交差反応性結合因子（NS3 1378 8マー（ペプチド29.0035/1260.04））のみが同定された（表XXVII Ib）。

#### 【0256】

要約すると、全部で2つの交差反応性B7スーパーサブタイプ結合因子が同定された（スコア169およびNS3 1378）。

#### 【0257】

（A1およびA24モチーフ保有エピトープの選択）

集団適用範囲をさらに増加するために、HLA-A1およびHLA-A24エピトープもまた、潜在的なワクチン構築物中に組み込み得る。

## 【0258】

以前の分析においては、2つのA1および3つのA24結合因子（HCVの4つの系統間で100%保存されている）が同定された（Wentworthら、Int. Immunol. 8:651-659, 1996）。上記で利用された14のHCV系統由来のタンパク質配列データの分析は、これらのペプチドが、79%を超えて保存されることを示し、そしてまた、さらなる11のA1モチーフ保有保存配列および25のA24モチーフ保有保存配列を同定した（表XXIX AおよびBを参照のこと）。このさらなる11のA1ペプチドのうちの8つおよびさらなる25のA24ペプチドのうち7つを、適切なHLA分子（すなわちA1またはA24）への結合について試験した。全体としては、表XXIXに示されるように、4つのA1モチーフペプチド（A）および3つのA24モチーフペプチド（B）は、適切な対立遺伝子体特異的HLA分子について500 nMまたはそれ未満の結合能力を有することが見出された。

## 【0259】

上記同定されたHLA-A2およびA3スーパーモチーフ保有エпитオプの分析は、14のうち13の場合において、100 nM未満のIC<sub>50</sub>で、スーパータイプ原型HLA分子（すなわち、A2スーパータイプについてはA\*0201、およびA3スーパータイプについてはA\*0301）と結合するペプチドが、交差反応性であり、そして続く実施例3に記載されるように、HCV感染患者によっておよび認識されることを明らかにした。これらの観察に基づいて、2つのA1ペプチドおよび1つのA24ペプチドエпитオプをまた、ワクチン組成物中の封入のための化合物として選択した；これらのペプチドは、100 nM未満のIC<sub>50</sub>で、適切なHLA分子と結合する。

## 【0260】

（実施例3：免疫原性の確認）

（A\*0201免疫原性の評価）

A\*0201/K<sup>b</sup>トランスジェニックマウスで誘導されるCTLは、ヒトの系で誘導されるCTLに類似した特異性を示すことが示されている（例えば、Vitellioら、J. Exp. Med. 173:1007-1015, 1991

；Wentworthら、Eur. J. Immunol. 26:97-101, 1996を参照のこと）。従って、これらのマウスを、上記の実施例2で同定された12の保存されたA2スーパータイプ交差反応ペプチドの免疫原性を評価するために使用した。

#### 【0261】

ペプチド免疫化に続くトランスジェニックマウスにおけるCTL誘導が記載されている（Vitielloら、J. Exp. Med. 173:1007-1015, 1991；Alexanderら；J. Immunol. 159:4753-4761, 1997）。これらの研究において、マウスに、過剰のIA<sup>b</sup>制限ヘルパーペプチド（140  $\mu$ g/マウス）（HBVコア128-140, Setteら、J. Immunol. 153:5586-5592, 1994）の存在下でIFA中に乳化したそれぞれのペプチド（50  $\mu$ g/マウス）を、しっぽの基部で皮下注射した。注射の11日後、脾細胞を、ペプチド負荷した同質遺伝子的なLPS芽細胞の存在下でインキュベートした。6日後、培養物をペプチドパルス化標的を用いて、細胞傷害性活性についてアッセイした。表XXXに要約したデータは、12ペプチド中の7が（58%）、A\*0201/K<sup>b</sup>トランスジェニックマウスにおいて一次CTL応答を誘導できたことを示す。（これらの研究について、ペプチドは、それがCTLを誘導した場合、陽性であるとみなした（少なくとも2つのトランスジェニック動物において、L. U. 30/10<sup>6</sup>細胞が2以上（Wentworthら、Eur. J. Immunol. 26:97-101, 1996）））。

#### 【0262】

保存された交差反応性候補CTLエピトープをまた、HCV感染患者から獲得したPBMCによるインビトロでの認識について試験した。手短には、HCVに感染した患者由来のPBMCを、10  $\mu$ g/mlの合成ペプチド存在下で培養した。7および14日後、その培養物をペプチドで再刺激した。その培養物を、標準の4時間<sup>51</sup>Cr放出アッセイで、特定のペプチドを使用してパルス化した標的細胞を用いて、21日目に、細胞溶解性活性についてアッセイした。そのデータを表XXXに要約する。示されるように、12のペプチドは全て、HCV感染の

患者由来のPBM Cによって認識されるCTLエピトープである。表XXXのデータから、HLAトランスジェニックが、リコール応答において陽性であったいくつかのペプチドの免疫原性を十分に示さなかったことに興味深く留意される。この見かけ上の矛盾は、利用される免疫化経路（例えば、ペプチド免疫化に対する自然感染）またはCTLレパートリーにおける差異を反映し得る。

#### 【0263】

(A\*03/A11免疫原性の評価)

上記実施例2で同定された8つのA3スーパータイプ交差反応性ペプチドのうち6つの免疫原性を、HLA-A2トランスジェニックマウスについて上記に記載したプロトコル(Alexanderら、J. Immunol. 159:4753-4761, 1997)を使用して、HLA-A11/K<sup>b</sup>トランスジェニックマウスにおいて評価した。これらの6つのペプチドのうち5つが、一次CTL応答を誘導し得た(表XXXI)。

#### 【0264】

8つのペプチドの全てをまた、HCV感染患者およびそのような患者の接触者由来のPBM C培養物を用いて、共同研究者によって研究した。このデータをまた表XXXIに要約する。手短には、8つのペプチドの全てが、HCV感染個体によって認識した。

#### 【0265】

(B7免疫原性の評価)

2つのB7スーパータイプ交差反応性ペプチドのうちの1つ(1145, 12、コア169)が、HCV感染患者における免疫原性について評価した。2人の別々の研究者が、このペプチドが、確かに免疫原性であり、そして、HCV感染患者由来のT細胞によって認識されることを示した(Changら、J. Immunol. 162:1156-1164, 1999)。

#### 【0266】

(実施例4：アナログを作製することによって天然のエピトープの結合能力を改善するための伸長したスーパーモチーフの実施)

本明細書中に示されるように、HLAモチーフおよびスーパーモチーフ（一次

および／または二次の残基を含む）は、高度に交差反応性の天然のペプチドの同定および調製において有用である。さらに、HLAモチーフおよびスーパーモチーフの規定はまた、アナログ化、または「修正（fixed）されて」、そのペプチドに特定の特徴（例えば、スーパータイプを含むHLA分子の群内のより優れた交差反応性、および／またはそれらHLA分子のいくつかまたは全てについてのより優れた結合親和性）を与える天然のペプチド配列内の残基を同定することによって、当業者が高度に交差反応性のエピトープを操作するのを可能とする。調整された結合親和性を示すアナログペプチドの例を、この実施例に示す。

#### 【0267】

（一次アンカー残基でのアナログ化）

実施例2に示すように、10を超える異なったHCV誘導のA2スーパータイプ制限エピトープが同定された。ペプチド操作ストラテジーを、試験したA2スーパータイプ対立遺伝子体の3／5に結合する、上記で同定した候補エピトープの交差反応性をさらに増加させるために、実行する。開示された（例えば、関連のおよび同時係属中のU.S.S.N. 09／226, 775において）データに基づいて、A2スーパーモチーフ保有ペプチドの一次アンカーを、例えば、2位に好ましいL、I、V、またはMを導入するように、およびC末端にIまたはVを導入するように、変化させる。

#### 【0268】

アナログペプチドの交差反応性を分析するために、各操作されたアナログを、プロトタイプのA2スーパータイプ対立遺伝子A\*0201に対する結合について最初に試験し、次いで、A\*0201結合能力を維持する場合、A2スーパータイプ交差反応性について試験する。

#### 【0269】

同様に、エピトープを保有するHLA-A3スーパーモチーフのアナログもまた生成され得る。例えば、A3スーパータイプの分子の3／5に結合するペプチドを、位置2に好ましい残基（V、S、MまたはA）を保有するために一次アンカー残基において操作し得る。

#### 【0270】

次いで、アナログペプチドを、A\*03およびA\*11（プロトタイプA3スーパータイプ対立遺伝子）を結合する能力について試験する。次いで、500 nM以下の結合能力を示すそれらのペプチドを、A3スーパータイプ交差反応性について試験する。

#### 【0271】

A2モチーフ保有ペプチドおよびA3モチーフ保有ペプチドと同様に、3個以上のB7スーパータイプ対立遺伝子を結合するペプチドを、可能な場合、増加した交差反応結合を達成するために改善し得る。B7スーパーモチーフ保有ペプチドを、Sidneyら（J. Immunol. 157:3480-3490、1996）に示されるように、例えば、C末端の一次アンカー位置に好ましい残基（V、I、LまたはF）を保有するために操作し得る。

#### 【0272】

（二次アンカー残基におけるアナログ）

さらに、HLAスーパーモチーフは、高い交差反応性のあるペプチドおよび／またはこのような特性と関連する二次アンカー位置の特定の残基を同定することにより、増加した親和性を有するHLA分子を結合するペプチドを操作することにおいて価値がある。これを示して、位置1における目立たない単一のアミノ酸置換を表すペプチドの結合能力を分析した。コア169配列の位置1のL～Fの置換を表すペプチド1145.13（表XXVII c）が、十分な親和性を有する全ての5つのB7スーパータイプ分子を結合し（全てのIC<sub>50</sub>値は、132 nM以下）、そして3つの場合において、35倍を越えるまで、親ペプチドの親和性より高い親和性を有する。

#### 【0273】

これだけのB7スーパータイプ交差反応性エピトープを同定したことから、以前の結合評価からの本発明者らの結果を分析して、最低でも、弱い親和性（500 nM～5 μMのIC<sub>50</sub>）を有する3/5のB7スーパータイプ分子を結合する、保存された（8、9、10、または11マー）ペプチドを同定するために分析した。この分析は、9個のペプチドを同定し、このうちの6個は、アナログである（analogued）（以前にアナログとされたコア169を含む）。これ

らのペプチドを、増強された結合親和性およびB 7 スーパータイプ交差反応性について試験する。

【0274】

十分に改善された結合能力または交差反応性を有する操作されたアナログを、例えば、IFA免疫またはリポペプチド免疫後に、HLA-B 7 トランスジェニックマウスにおける免疫原性について試験する。

【0275】

結論として、これらのデータは、単一のアミノ酸置換でさえその使用により、HLA スーパータイプ分子に対するペプチドリガンドの結合親和性および／または交差反応性を増加することが可能である。

【0276】

(実施例5：HLA-D R結合モチーフを有する保存されたHCV由来配列の同定)

HLAクラスIIスーパーモチーフまたはモチーフを保有するペプチドエピトープをまた、実施例1～3に記載の方法論と類似の方法論を使用して、以下に概略を示すように、同定し得る。

【0277】

(HLA-D Rスーパーモチーフ保有エピトープの選択)

HCV由来、HLAクラスII HTLエピトープを同定するために、HLAクラスIIスーパーモチーフ／モチーフ配列の同定のために使用される同じ14個のHCVポリタンパク質配列を、HLA-D Rモチーフまたはスーパーモチーフ保有配列の存在について分析した。詳細には、DRスーパーモチーフを含む15マー配列を選択し、これはさらに9マーコア、および3個の残基N末端隣接領域およびC末端隣接領域をさらに含む(合計15個のアミノ酸)。15マー配列が、分析されたHCV系統の少なくとも79%(11/14)において保存されることもまた必要とされた。これらの基準により、合計49の非重複配列を同定し、これは、表XXIIAにおいて示される(クラスIIエピトープの状況において、配列を、配列の80%より多くが、別のエピトープと重複する場合、その配列は、操作上重複であるとみなす)。



## 【0278】

DR分子に結合するペプチドを予測するプロトコルを、開発した（Southwoodら、J. Immunol. 160:3363-3373、1998）。個々のDR分子に特異的なこれらのプロトコルは、9マーコア領域のスコアリング（scoring）およびランキング可能にする。各々のプロトコルは、9マーコア内のDRスーパーモチーフ一次アンカー（すなわち、位置1および位置6）の存在についてペプチド配列をスコアリングするだけでなく、二次アンカーの存在について配列をさらに評価する。対立遺伝子特異的選択表を使用して（例えば、Southwoodら、ibidを参照のこと）、これらのプロトコルは、特定のDR分子に結合する高い可能性を有するペプチド配列を効率的に選択することを見出した。さらに、相前後してこれらのプロトコル（詳細には、DR1、DR4w4、およびDR7についてのプロトコル）を実施することにより、DR交差反応性ペプチドを効率的に選択し得ることを見出した。

## 【0279】

これらのプロトコルが、さらなるエピトープを同定するのに役立つかどうか調べるため、上記で使用される同じHCVポリタンパク質を、79%以上（11/14系統）が保存されている9マーコア領域を有する15マーペプチドの存在について再スキャンした。これにより、152個の配列を同定し；このうちの49個が、上記のように、以前に同定された。次に、これらのペプチドの各々の9マーコア領域を、DR1、DR4w4、およびDR7アルゴリズムを使用して、スコアリングした。22のペプチド（12個の新しい配列を含む）（10個のペプチドが、49個の本来のセットに由来した）が、交差反応性DRバインダーを予測するプロトコル由来スコアを有する9マーコアを有することを見出した。12個のさらなる配列を、表XXXIIBにおいて示す。

## 【0280】

保存された、上記で同定されたHCV由来ペプチドを、種々の一般的なHLA-DR分子についてのそれらの結合能力について試験した。全てのペプチドを、一次パネル（DR1、DR4w4、およびDR7）においてDR分子に対する結合について試験した。次いで、これらの3個のDR分子の少なくとも2個を結合

するペプチドを、二次アッセイにおいてDR 2 w 2  $\beta$  1、DR 2 w 2  $\beta$  2、DR 6 w 1 9、およびDR 9分子に対する結合について試験した。最終的に、4個の二次パネルDR分子の少なくとも2個、および従って累積的に、7個の異なるDR分子の少なくとも4個を、第3のアッセイにおいてDR 4 w 1 5、DR 5 w 1 1、およびDR 8 w 2分子に対する結合についてスクリーニングした。一次、二次、および三次スクリーニングアッセイを含む10個のDR分子のうちの少なくとも7個に結合するペプチドを、交差反応性DRバインダーとみなした。これらのスクリーニングパネルの組成物、および関連する抗原の表現型の頻度を、表XXXIIIにおいて示す。

#### 【0281】

試験の際に、本来の75個のペプチド(39%)のうちの29個が、2つ以上の一次HLA分子を結合したことを見出した。次いで、これらの交差反応性バインダーのうちの26個を、二次アッセイにおいて試験し、そして19個のペプチドを、一次および二次パネルにおける、7個のHLA-DR分子の少なくとも4個を結合することを見出した。最終的に、二次スクリーニング相を通過する19個のペプチドを、三次アッセイにおいて結合について試験した。結果として、10個の一般的なHLA-DR分子の少なくとも7個を結合する、9個のペプチドを同定した。表XXXIVは、一次～三次パネルにおいて、これら9個のペプチドおよび各対立遺伝子特異的HLA-DR分子に対するそれらの結合能力を示す。完全な結合分析を実施しなかった2個のペプチド(F134.05およびF134.08)もまた、表XXXIVにおいて示す。しかし、これらのペプチドの両方は、試験された7個のHLA-DR分子のうちの6個に結合した。F134.08は、ペプチド1283.44をネストし(nest)、これは、10個の対立遺伝子特異的HLA分子の8個を結合した。

#### 【0282】

結論として、HCVゲノムの6個の別々の(すなわち、非重複)領域由来の11個の交差反応性DR結合ペプチドを、同定した。これらのエピトープが由来する6個の領域のうちの2個を、複数の重複エピトープにより包含する。

#### 【0283】

(保存されたDR3モチーフペプチドの選択)

HLA-DR3が、白色人種集団、黒色人種集団、スペイン系人種集団において優勢な対立遺伝子であることから、DR3結合能力は、HTLエピトープの選択において重要な判定基準である。しかし、以前に得られたデータは、DR3のみまれに、他のDR対立遺伝子と交差反応性であることを示した(Sidneyら、J. Immunol. 149:2634-2640、1992; Gelukら、J. Immunol. 152:5742-5748、1994; Southwoodら、J. Immunol. 160:3363-3373、1998)。これは、DR3ペプチド結合モチーフが、ほとんどの他のDR対立遺伝子の特異性とは異なるようであることにおいて、全く驚くべきでない。

【0284】

DR3を結合するペプチドを効率的に同定するために、標的タンパク質を、Gelukら(J. Immunol. 152:5742-5748、1994)により報告される2個のDR3特異的結合モチーフの1つを保有する保存された配列について分析した。15個の配列(上記で同定されたDRスーパーモチーフ配列内にネストされたペプチド(ペプチドPape 22)を含む)を、同定した(表XXXIId)。好ましくは、DR3モチーフを、DRスーパーモチーフ領域と近接してクラスター化されて見出される。

【0285】

DR3モチーフを含む15個のペプチドの14個を、それらのDR3結合能力について試験した。2個のペプチド(CH35.0106およびCH35.0107)が、 $1\mu\text{M}$ 以下(表XXXV)の親和性を有してDR3を結合し、かつそれによってHLAクラスIIの高い親和性バインダーとして見なされることを見出した。

【0286】

次いで、この様式において同定されるDR3結合エピトープを、DRスーパーモチーフ保有ペプチドエピトープを有するワクチン組成物に含み得る。

【0287】

(実施例6:候補HCV由来HTLエピトープの免疫原性および既知の優性H

CV HTLエピトープ)

G. P a p eおよびC. F e r r a r iとの共同研究の過程で、8個の保存されたHCV由来エピトープが同定され、このエピトープは、HCV感染個体により認識される。

#### 【0288】

これらの研究の1つ(Diepolderら、J. Virol. 71:6011-6019、1997)により、ペプチドF98.05(これは、NS3タンパク質の残基1248~1261にわたる)を、急性C型肝炎感染を有する4/5の患者からの14/23のNS3特異的CD4+T細胞クローンにより認識された、免疫優性のCD4+T細胞エピトープとして同定した。HLA-DR交差反応性バインダーであると上記に示されるこのエピトープ(表XXXIVを参照のこと)を、複数のHLA分子(DR4、DR11、DR12、DR13、およびDR16)によりヘルパーCD4+T細胞に提示することが可能であった。より限定された状況で、相応じて、2個の他のペプチド(Pape 22およびPape 29)のどちらもDR交差反応性バインダーではないが、これらのペプチドもまた、CD4+T細胞クローンにより認識された。

#### 【0289】

直接的な末梢血T細胞刺激により、およびHCV特異的T細胞株およびクローンの精密な特異性分析により、Ferrariのグループとの共同研究においてなされた研究は、6個の免疫優性エピトープ(Pape共同研究において同定されたものもまた1つ含む)を同定し、これらは、コアタンパク質、NS3タンパク質、およびNS4タンパク質の保存された領域由来である。これらのエピトープがまた、交差反応性であることを見出し、異なるクラスII分子の状況において、T細胞に提示された。この6個のエピトープのうちの3つ(F98.04(F134.03)、F134.05およびF134.08)は、交差反応性のHLA-DRバインダーである(表XXXIVを参照のこと)。

#### 【0290】

結論として、HCVゲノムの保存された領域由来の8個のエピトープの免疫原性を示した。これらのエピトープの3つ(F98.05、F134.05、およ

びF134.08;表XXXXIVを参照のこと)は、広範な交差反応性HLA-DR結合ペプチドである。

#### 【0291】

(実施例7. 集団の適用範囲の広さを決定するための種々の人種背景におけるHLAスーパータイプの表現型の頻度の算出)

この実施例は、複数のスーパーモチーフおよび/またはモチーフを含む複数のエピトープを構成するワクチン組成物の集団の適用範囲の広さの評価を例証する。

#### 【0292】

集団の適用範囲を分析するために、HLA対立遺伝子の遺伝子頻度を、決定した。各HLA対立遺伝子についての遺伝子頻度を、二項分布式 $g f = 1 - (S Q R T(1 - a f))$ を利用して、抗原または対立遺伝子頻度から算出した(例えば、Sidneyら、Human Immunol. 45:79-93, 1996を参照のこと)。全体的な表現型頻度を得るために、蓄積(cumulative)遺伝子頻度を算出し、そして蓄積抗原頻度は、逆の式 $[a f = 1 - (1 - C g f)^2]$ の使用により、導かれる。

#### 【0293】

頻度データが、DNAタイピングのレベルにおいて利用可能でない場合、血清学的に規定される抗原頻度への対応が、仮定された。合計の潜在的なスーパータイプ集団の適用を得るために、結合の不安定性を仮定せず、そしてスーパータイプの各々に属することが確認された対立遺伝子のみを含んだ(最小の評価)。遺伝子座中の組み合わせにより達成される合計の潜在的適用の評価を、考えられるB対立遺伝子により含まれることが期待され得るAに含まれない集団の比率をAの適用に足すことにより行った(例えば、合計 $= A + B^* (1 - A)$ )。A3様スーパータイプの確認されたメンバーは、A3、A11、A31、A\*3301、およびA\*6801である。A3様スーパータイプはまた、A34、A66、およびA\*7401を含み得るが、これたの対立遺伝子を、全体の頻度の算出には含まなかった。同様に、A2様スーパータイプファミリーの確認されたメンバーは、A\*0201、A\*0202、A\*0203、A\*0204、A\*0205、

A\*0206、A\*0207、A\*6802、およびA\*6901である。最終的に、B7様スーパータイプの確認された対立遺伝子は、B7、B\*3501-03、B\*51、B\*5301、B\*5401、B\*5501-2、B\*5601、B\*6701、およびB\*7801である（潜在的にはまた、B\*1401、B\*3504-06、B\*4201、およびB\*5602）。

#### 【0294】

A2スーパータイプ、A3スーパータイプおよびB7スーパータイプを組み合わせることにより達成される集団適用範囲は、5つの主要な人種集団において約86%である（表XXIを参照のこと）。適用範囲を、A1モチーフおよびA24モチーフを保有するペプチドを含むことにより拡大し得る。5つの異なる主要な人種集団を越え、平均して、A1は、集団の12%そしてA24は、集団の29%で存在する（白色人種、北米黒人種、中国人、日本人、およびスペイン系人種）。合わせて、これらの対立遺伝子は、これらの同じ人種集団において平均39%の頻度で示された。主要な人種を越えた合計の適用範囲は、A1およびA24が、A2スーパータイプ対立遺伝子、A3スーパータイプ対立遺伝子およびB7スーパータイプ対立遺伝子の適用と組み合わせる場合、95%より大きい。類似のアプローチを使用して、クラスIIモチーフ保有エピトープの組み合わせを用いて達成された集団適用を評価し得る。

#### 【0295】

（候補HLAクラスIエピトープおよびクラスIIエピトープの要約）

要約すれば、上記の実施例において示されるデータに基づき、HCVウイルスの保存された領域由来の26個のCTL候補ペプチドエピトープを同定した（表XXXVIa）。これらとしては、12個のHLA-A2スーパーモチーフ保有エピトープ、8個のHLA-A3スーパーモチーフ保有エピトープ、および1個のHLA-B7スーパーモチーフ保有エピトープが挙げられ、この各々は、複数のA2スーパータイプ分子、A3スーパータイプ分子、またはB7スーパータイプ分子に結合可能であり、そしてHLAトランスジェニックマウスにおいて免疫原性であるかまたはヒトPBLに対して抗原性である（ペプチド29.0035/1260.04を例外として）。免疫原性について評価されないさらなるエピ

トープもまた挙げられる。それらは、さらなるB7スーパータイプ保有エピトープ、および2個のHLA-A1および1個のHLA-A24の高い親和性結合ペプチドである。HLA-A33もまた結合する、公知のHLA-A31に制限されたエピトープ(VGIYLLPNR)もまた、表XXXVIaに示され、そして他のクラスIエピトープまたはクラスIIエピトープと組み合わせて有用である。

#### 【0296】

これらの26個のCTLエピトープ(本明細書中および当該分野で開示されるように)と共に、平均の集団適用(すなわち、少なくとも1個のHCVエピトープの認識)が、5つの主要な人種集団の各々において95%より大きいことが予測される。これらのエピトープのうちの25個により付与される適用の潜在的重複(ペプチド24.0086を含まなかった)を、ゲーム理論モンテカルロシミュレーション分析を使用して推定し、これは、当該分野で公知である(例えば、Osborne、M. J. およびRubinstein、A. 「A course in game theory」MIT Press、1994を参照のこと)。図1において示されるように、白色人種集団、北米黒色人種集団、日本人種集団、中国人種集団、およびスペイン系人種集団から構成される集団の個体の90%が、本明細書中に記載される候補エピトープの2個以上を認識することが推定される。

#### 【0297】

ミニ遺伝子構築物または他のワクチン処方物の設計における使用のための好ましいHCV由来HTLエピトープの表を、表XXXVIbに要約する。示されるように、複数のHLA-DR分子に結合するかまたはHLA-DR3を結合する、9個の異なるペプチド結合領域を、同定した(NS4 1914-1935領域の場合、患者により認識されるより長いペプチド(F134.08)を、より短いペプチド(1283.44)に関して選択した。より長いペプチドが、このより短いペプチドを本質的に取り込み、そしてまた、このより短いペプチドが結合しない、さらなるDR分子を結合する)。これらのペプチドのうちの3個を、HCV感染患者において優性エピトープとして認識した。

## 【0298】

D Rスーパーモチーフ、およびD R 3を認識する10個の一般的なD R分子の各々は、最小の2個のエピトープにより含まれることを推定する。相応じて、エピトープのこのパネルにより示される合計の推定される集団適用は、5つの主要な人種集団の各々において91%を越える（表XXXVII）。

## 【0299】

（実施例8：プライミング後の内因的にプロセスされる抗原の生成の認識）

この実施例は、実施例1～6に記載されるように同定されかつ選択されたネイティブなペプチドエピトープまたは類似のペプチドエピトープにより誘導されるCTLが、内因的に合成される、すなわちネイティブな抗原を認識することを決定する。

## 【0300】

実施例3におけるようなペプチドエピトープ（例えば、HLA-A2スーパーモチーフ保有エピトープ）を用いて免疫されたトランスジェニックマウスから単離されたエフェクター細胞を、ペプチドでコートされた刺激細胞を使用してインビトロで再刺激する。6日後、エフェクター細胞を、細胞傷害性についてアッセイし、そしてペプチド特異的細胞傷害性活性を含む細胞株をさらに再刺激する。さらに6日後、これらの細胞株を、ペプチドの非存在下または存在下で、 $^{51}\text{Cr}$ 標識Jurkat-A2.1/K<sup>b</sup>標的細胞に関する細胞傷害性活性について試験し、そしてまた、内因的に合成された抗原を保有する $^{51}\text{Cr}$ 標識標的細胞（すなわち、HCV発現ベクターを用いて安定にトランスフェクトされる細胞）に関して試験する。

## 【0301】

この結果は、ペプチドエピトープを用いてプライムされた動物から得られたCTL系統が、内因的に合成されたHCV抗原を認識することを示す。このような分析に使用されるトランスジェニックマウスモデルの選択は、評価されているエピトープに依存する。HLA-A\*0201/K<sup>b</sup>トランスジェニックマウスに加え、いくつかの他のトランスジェニックマウスモデル（ヒトA11を有するマウスを含む）（これはまた、A3エピトープ、およびB7対立遺伝子を評価するた



めに使用され得る)が特徴付けられており、そして他(例えば、HLA-A1およびA24に対するトランスジェニックマウス)が開発されている。HLA-DR1マウスモデルおよびHLA-DR3マウスモデルもまた開発されており、これを、HTLエピトープを評価するために使用し得る。

#### 【0302】

(実施例9：トランスジェニックマウスにおけるCTL-HTL結合体化エピトープの活性)

本実施例は、HCV CTL/HTLペプチド結合体の使用(これにより、ワクチン組成物が、HCV感染患者またはHCVの危険のある個体に投与されるペプチドを含む)によるトランスジェニックマウスにおけるCTLおよびHTLの誘導を例示する。ペプチド組成物は、複数のCTLおよび/またはHTLエピトープを含み得る。この分析は、ワクチン組成物における1つ以上のHTLエピトープの含有により達成され得る増強された免疫原性を示す。このようなペプチド組成物は、好ましいCTLエピトープ(例えば、表XXVI-XXIXから選択される少なくとも1つのCTLエピトープ、またはそのエピトープのアナログを含む)に結合体化される脂質化された(lipidated)HTLエピトープを含み得る。このHTLエピトープを、例えば、表XXXIから選択する。

#### 【0303】

リポペプチド調製：リポペプチドを、適切な脂肪酸を、樹脂結合ペプチドのアミノ末端にカップリングすることにより調製する。代表的な手順は、以下のようである：4倍過剰の、適切な脂肪酸の予め形成された対称無水物のジクロロメタン溶液を、その樹脂に添加し、この混合物を、2時間反応させる。この樹脂を、ジクロロメタンを用いて洗浄し、そして乾燥する。次いで、この樹脂を、適切なスカベンジャーの存在下で(例えば、5%(v/v)水)、60分間、20℃にて、トリフルオロ酢酸を用いて処理する。過剰のトリフルオロ酢酸のエバポレーション後、粗ペプチドを、ジエチルエーテルを用いて洗浄し、メタノール中で溶解し、そして水の添加により沈殿する。このペプチドを、濾過により回収し、そして乾燥する。

#### 【0304】

免疫手順：トランスジェニックマウスの免疫を、記載されるように実施する（Alexanderら、J. Immunol. 159:4753-4761、1997）。例えば、ヒトHLA-A2.1対立遺伝子についてのトランスジェニックであり、そしてHLA-A\*0201モチーフ保有エピトープまたはHLA-A2スーパーモチーフ保有エピトープの免疫原性アセスメントのために有用であるA2/K<sup>b</sup>マウスを、生理食塩水、またはDMSO/生理食塩水中で処方される0.1mlのペプチド結合体を用いて皮下で（尾の基部）プライムする。プライミングから7日後、これらの動物から得られる脾細胞を、ペプチドでコートされた、同族の照射されたLPSで活性化されたリンパ芽球を用いて再刺激する。

#### 【0305】

細胞株：ペプチド特異的細胞傷害性アッセイのための標的細胞は、HLA-A2.1/K<sup>b</sup>キメラ遺伝子を用いてトランスフェクトされたJurkat細胞である（例えば、Vitellioら、J. Exp. Med. 173:1007, 1991）。

#### 【0306】

インビトロのCTL活性：プライムの1週間後、脾臓細胞（ $30 \times 10^6$ 細胞/フラスコ）を、37℃、10mlの培養培地/T25フラスコ中で、同族の、照射された（3000ラド）、ペプチドコートされたリンパ芽球（ $10 \times 10^6$ 細胞/フラスコ）と、共培養する。6日後、エフェクター細胞を回収し、細胞毒性活性についてアッセイする。

#### 【0307】

細胞傷害性活性についてのアッセイ：標的細胞（ $1.0 \sim 1.5 \times 10^6$ ）を、37℃で、 $200 \mu\text{l}$ の $^{51}\text{Cr}$ の存在下でインキュベートする。60分後、細胞を3回洗浄し、そしてR10培地で再懸濁する。 $1 \mu\text{g}/\text{ml}$ の濃度で必要とされるペプチドを添加する。アッセイについて、 $10^4$   $^{51}\text{Cr}$  標識標的細胞を、Uボトム96ウェルプレートにおいて、異なる濃度のエフェクター細胞（ $200 \mu\text{l}$ の最終用量）に添加する。37℃のインキュベーション6時間後、上清の0.1mlのアリコートをし、各ウェルから除去し、そして放射活性を、マイク

ロメディック (micromedic) 自動 $\gamma$ 計測器において計測する。百分率特異的溶解を、式により測定する：百分率特異的放出 =  $100 \times (\text{実験的放出} - \text{自発的放出}) / (\text{最大放出} - \text{自発的放出})$ 。同じ条件下の別個のCTLアッセイの実行の間で、比較を容易にするために、 $^{51}\text{Cr}$ 放出データを、溶解単位/ $10^6$ 個の細胞として表す。1つの溶解単位を、6時間 $^{51}\text{Cr}$ 放出アッセイにおいて10,000標的細胞の30%の溶解を達成するために必要とされるエフェクター細胞の数として任意に規定する。特異的な溶解単位/ $10^6$ を得るために、ペプチドの非存在下で得られた溶解単位/ $10^6$ を、ペプチドの存在下で得られた溶解単位/ $10^6$ から引く。例えば、30%の $^{51}\text{Cr}$ 放出を、ペプチドの非存在下、50:1のエフェクター (E) : 標的 (T) 比 (すなわち、10,000個の表TKEII標的に対して、 $5 \times 10^5$ 個のエフェクター細胞) において得て、そしてペプチドの存在下、5:1 (すなわち、10,000個の標的に対して、 $5 \times 10^4$ 個のエフェクター細胞) において、特異的溶解単位は、 $[(1/50,000) - (1/500,000)] \times 10^6 = 18\text{LU}$ である。

#### 【0308】

この結果を、免疫原性CTL/HTL結合体ワクチン沈殿物を注入された動物のCTL応答の大きさを評価するために、分析し、そして実施例3で概略されるようなCTLエピトープを使用して達成されるCTL応答の大きさと比較する。これと類似する分析を、複数のCTLエピトープおよび/または複数のHTLエピトープを含むペプチド結合体の免疫原性を評価するために実施し得る。これらの手順に従って、CTL応答を誘導し、そして付随して、HTL応答を、このような組成物の投与に際して誘導することを見出す。

#### 【0309】

(実施例10. HCV特異的ワクチン中の含有のためのCTLエピトープおよびHTLエピトープの選択)

本実施例は、本発明のワクチン組成物のためのペプチドエピトープの選択についての手順を例示する。この組成物中のペプチドは、核酸配列の形態で、ペプチドをコードする単一または1つ以上の配列 (すなわち、ミニ遺伝子) であり得るか、または単一のエピトープおよび/またはポリエピトープのペプチドであり得

る。

#### 【0310】

投与の際に、腫瘍クリアランスと相互に関係があることが観察されている免疫応答を模倣するエピトープを選択する。例えば、ワクチンは、少なくとも1つのHCV抗原領域からとられる3～4個のエピトープを含み得る。1つの領域由来のエピトープを、1つ以上のさらなるHCV抗原領域由来のエピトープと組み合わせて、使用し得る。エピトープのアナログもまた、ワクチンにおける含有のために選択し得る。

#### 【0311】

HCLクラスI分子に対する500nM以下の $IC_{50}$ の結合親和性を有するか、またはクラスIIに対する1000nM以下の $IC_{50}$ の結合親和性を有するエピトープを選択する。

#### 【0312】

十分なスーパーモチーフ保有ペプチド、または対立遺伝子特異的モチーフ保有ペプチドの十分なアレイを、広範な集団の適用を与えるために選択する。例えば、エピトープを、少なくとも80%の集団適用を提供するために選択する。モンテカルロ分析（当該分野で公知の統計的評価）を使用して、集団適用の広さ、または重複を評価し得る。

#### 【0313】

ポリエピトープの組成物（例えば、ミニ遺伝子）を作製する場合、代表的には、目的のエピトープを含む可能な最も小さいペプチドを生成することが所望される。この使用される原理は、ネストされるエピトープを含むペプチドを選択する場合に使用される原理と同じでない場合、類似する。さらに、しかし、ミニ遺伝子として提供される核酸配列の決定の際、それによりコードされるペプチド配列を、任意の「接合部エピトープ」が作製されているか否かを決定するために分析する。接合部エピトープは、予想されるように（例えば、モチーフ分析により）、潜在的なHLA結合エピトープである。接合部エピトープは、一般的に回避される。なぜなら、レシピエントは、HLA分子に結合し得、そしてそのエピトープに対する免疫応答を生成するからであり、これは、ネイティブなタンパク質配

列には存在しない。

#### 【0314】

ワクチン組成物における含有のためのペプチドエピトープを、例えば、表XXVI～XXIXおよび表XXXIIに列挙されるエピトープから選択する。選択されたペプチドから構成されるワクチン組成物は、投与される場合、安全で、効果的であり、そして急性HCV感染を排除する免疫応答の大きさに類似の免疫応答を惹起する。

#### 【0315】

(実施例11：ミニ遺伝子の複数のエピトープDNAプラスミドの構築)

この実施例は、ミニ遺伝子発現プラスミドの構築のための誘導を提供する。ミニ遺伝子プラスミドは、もちろん、本明細書中に記載されるようなCTLおよび/またはHTLエピトープもしくはエピトープのアナログの種々の構造を含み得る。発現プラスミドの構築および評価の例を、例えば、同時に係属しているU.S. S. N. 09/311, 784 (5/13/99に出願される)において記載する。HCVエピトープの発現のためのこのようなプラスミドの例を図2に示し、これは、ミニ遺伝子構築物におけるHCVペプチドエピトープの位置を例示する。

#### 【0316】

ミニ遺伝子発現プラスミドは、複数のCTLペプチドエピトープおよびHTLペプチドエピトープを含み得る。本実施例において、HLA-A2スーパーモチーフ保有ペプチドエピトープ、HLA-A3スーパーモチーフ保有ペプチドエピトープ、HLA-B7スーパーモチーフ保有ペプチドエピトープならびにHLA-A1モチーフ保有ペプチドエピトープおよびHLA-A24モチーフ保有ペプチドエピトープを、DRスーパーモチーフ保有エピトープおよび/またはDR3エピトープと共に使用する(図2)。好ましいエピトープを、例えば、表XXVI～XXIXおよびXXXIIにおいて同定する。複数のHCV抗原(例えば、コア、NS4、NS3、NS5、NS1/E2)由来のHLAクラスIスーパーモチーフまたはモチーフ保有ペプチドエピトープを選択し、その結果、複数のスーパーモチーフ/モチーフを、広範な集団適用を保証するために示す。同様に、

H L Aクラス I I エピトープを、複数の H C V 抗原から選択し、広範な集団適用を提供し、すなわち、H L A D R - 1 - 4 - 7 スーパーモチーフ保有エピトープおよび H L A D R - 3 モチーフ保有エピトープを、ミニ遺伝子構築物中の含有のために選択する。次いで、選択した C T L エピトープおよび H T L エピトープを、発現ベクターにおける発現のためにミニ遺伝子中に取り込む。

#### 【0317】

本実施例は、このようなミニ遺伝子保有発現プラスミドの構築に使用される方法を示す。ミニ遺伝子組成物のために使用され得る他の発現ベクターが利用可能であり、そして当業者に公知である。

#### 【0318】

ミニ遺伝子 D N A プラスミドは、コンセンサス K o z a k 配列ならびにコンセンサスマウス  $\kappa$  I g 軽鎖シグナル配列、続いて本明細書中に開示された原理に従って選択された C T L エピトープおよび／または H T L エピトープを含む。この配列は、p c D N A 3 . 1 M y c - H i s ベクターによってコードされた、M y c 抗体エピトープタグおよび H i s 抗体エピトープタグに融合されたオープンリーディングフレームをコードする。

#### 【0319】

15 個のヌクレオチド重複を含む平均約 70 ヌクレオチド長である重複オリゴヌクレオチド（例えば、8 個のオリゴヌクレオチド）を、合成し、そして H P L C 精製する。このオリゴヌクレオチドは、選択されたペプチドエピトープならびに適切なリンカーヌクレオチド、K o z a k 配列、およびシグナル配列をコードする。最終的なマルチエピトープミニ遺伝子を、P C R を用いた 3 セットの反応で重複オリゴヌクレオチドを伸長することによってアセンブルする。P e r k i n / E l m e r 9600 P C R 機器を使用し、そして以下の条件を使用して全部で 30 サイクルを実施する：95℃で 15 分間、アニーリング温度（各プライマー対の最も低く計算された T<sub>m</sub> より 5° 下）で 30 秒間、および 72℃で 1 分間。

#### 【0320】

第 1 回目の P C R 反応について、2 つのオリゴヌクレオチド（すなわち、増幅

プライマー対)の各々の5  $\mu$ gを、アニーリングし、そして伸長する：オリゴヌクレオチド1+2、3+4、5+6、および7+8を、Pfuポリメラーゼ緩衝液(1 $\times$ =10mM KCL、10mM (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>、20mM Tris-クロライド、pH8.75、2mM MgSO<sub>4</sub>、0.1% Triton X100、100  $\mu$ g/ml BSA)、0.25mM 各dNTP、および2.5UのPfuポリメラーゼを含む100  $\mu$ lの反応物と合わせる。全長ダイマー生成物を、ゲル精製し、そして、2つの反応物(1+2と3+4の生成物、ならびに5+6と7+8の生成物を含む)を混合し、アニーリングし、そして10サイクルで伸長させる。次いで、この2つの反応物の半分を混合し、そして、5サイクルのアニーリングおよび伸長を実施し、その後に、隣接プライマーを添加して、全長生成物をさらに25回サイクルで増幅する。全長生成物を、ゲル精製し、そしてpCR-blunt (Invitrogen)にクローン化し、そして、個々のクローンを、配列決定によってスクリーニングする。

### 【0321】

(実施例12. プラスミド構築およびこの構築物が誘導する免疫原性の程度)

実施例11に概説された方法論を用いて調製されたプラスミド構築物が免疫原性を誘導し得る程度を、マウスへのインビボ注射ならびに引き続きCTL活性およびHTL活性のインビトロ評価(これらは、それぞれ、細胞傷害アッセイおよび増殖アッセイを用いて分析され、例えば、U. S. S. N. 09/311, 784 (1999年5月13日出願)およびAlexanderら、Immunity 1:751-761, 1994に詳述される)を介して評価する。例えば、HLA-A2スーパーモチーフエピトープを含むpMinミニ遺伝子構築物がCTLをインビボで誘導する能力を評価するために、HLA-A2.1/K<sup>b</sup>トランスジェニックマウスを、100  $\mu$ gの裸のcDNAを用いて筋内で免疫する。cDNA免疫によって誘導されたCTLのレベルを比較するための手段として、コントロール群の動物もまた、実際のペプチド組成物(これは、ミニ遺伝子によってコードされるのと同様に単一のポリペプチドとして合成される複数エピトープを含む)で免疫する。

### 【0322】

免疫動物からの脾細胞を、各それぞれの組成物（ミニ遺伝子にコードされるペプチドエピトープまたはポリエピトープペプチド）で2回刺激し、次いで、 $^{51}\text{Cr}$ 放出アッセイにおいてペプチド特異的細胞傷害活性についてアッセイする。この結果は、A3制限されたエピトープに対するCTL応答の大きさを示し、従って、ミニ遺伝子ワクチンおよびポリエピトープワクチンのインビボ免疫原性を示す。従って、このミニ遺伝子が、ポリエピトープペプチドワクチンと同様に、HLA-A2スーパーモチーフペプチドエピトープに対して指向される免疫応答を誘発することを見出した。同様の分析がまた、他のHLA-A3トランスジェニックマウスモデルおよびHLA-B7トランスジェニックマウスモデルを用いて実施され、HLA-A3モチーフおよびHLA-B7モチーフまたはHLA-A3スーパーモチーフおよびHLA-B7スーパーモチーフによるCTL誘導を評価する。

#### 【0323】

ミニ遺伝子をコードするクラスIIエピトープがインビボでHTLを誘導する能力を評価するために、例えば、I-A<sup>b</sup>制限されたマウスを、 $100\mu\text{g}$ のプラスミドDNAを用いて筋内で免疫する。DNA免疫によって誘導されたHTLのレベルを比較するために、コントロール群の動物をまた、完全フロイントアジュバント中にエマルジョン化された実際のペプチド組成物を用いて免疫する。

#### 【0324】

CD4<sup>+</sup> T細胞（すなわち、HTL）を、免疫動物の脾細胞から精製し、そして、各それぞれの組成物（ミニ遺伝子にコードされるペプチド）で刺激する。HTL応答を、 $^3\text{H}$ チミジン取り込み増殖アッセイを用いて測定する（例えば、Alexanderら、Immunity 1:751-761、1994を参照のこと）。この結果は、HTL応答の大きさを示し、従って、このミニ遺伝子のインビボでの免疫原性を示す。

#### 【0325】

あるいは、プラスミド構築物は、エピトープ発現核酸構築物を用いたAPCの形質導入またはトランスフェクションに続く、APCによるエピトープ提示について試験することによって、インビトロで評価され得る。このような研究は、「



抗原性」を決定し、そして、ヒトAPCの使用を可能にする。このアッセイは、ある状況においてAPCによって提示されるこのエピトープの能力を示し、この状況は、細胞表面上のエピトープ-HLAクラスI複合体の密度を定量することによって、T細胞により認識される。定量を、APCから溶出されたペプチドの量を直接測定することによって実施し得るか（例えば、Sijtsら、J. Immunol. 156:683-692、1996；Demotzら、Nature 342:682-684、1989を参照のこと）；または、ペプチド-HLAクラスI複合体の数を、感染もしくはトランスフェクトされた標的細胞によって誘導された溶解物の量またはリンホカイン放出を測定し、次いで、等しいレベルの溶解物またはリンホカイン放出を得るのに必要であるペプチドの濃度を決定することによって概算され得る（例えば、Kageyamaら、J. Immunol. 154:567-576、1995を参照のこと）。

#### 【0326】

（実施例13：予防的使用のためのペプチド組成物）

本発明のワクチン組成物を使用して、HCV感染の危険性がある人のHCV感染を予防する。例えば、実施例9および／または実施例10に選択されるような複数のCTLエピトープおよびHTLエピトープを含むポリエピトープペプチドのエピトープ組成物（またはこれを含む核酸）（これはまた、集団の80%より多くを標的化するように選択される）を、HCV感染の危険性がある個体に投与する。この組成物を、複数のエピトープを含む単一脂質性ポリペプチド（single lipidated polypeptide）として提供する。このワクチンを、フロイント不完全アジュバントからなる水性キャリア中で投与する。最初の免疫のためのペプチドの用量は、70kgの患者について、約1～約50,000 $\mu$ g、一般的に100～5,000 $\mu$ gである。ワクチンの最初の投与の後に、4週間でブースター用量が続き、PBMCサンプル中のエピトープ-特異的CTL集団の存在を決定する技術によるこの患者における免疫応答の大きさの評価が続く。さらなるブースター用量を、必要である場合、投与する。この組成物は、HCV感染に対する予防法として、安全かつ効果的の両方であることが見出される。

## 【0327】

あるいは、ポリエピトープペプチド組成物は、当該分野で公知の方法論および本明細書中に開示される方法論に従って、核酸として投与され得る。

## 【0328】

(実施例14：ネイティブなHCV配列由来のポリエピトープワクチン組成物)

ネイティブなHCVポリタンパク質配列を、好ましくは各クラスIおよび／またはクラスIIのスーパーモチーフまたはモチーフについて規定されたコンピューターアルゴリズムを用いてスクリーニングし、複数のエピトープを含むポリタンパク質の「相対的に短い (relatively short)」領域を同定する。そして、この配列は、好ましくは、ネイティブ抗原全体よりも短い長さである。複数の異なる（重複さえしている）エピトープを含むこの相対的に短い配列を選択し、そして使用して、ミニ遺伝子構築物を作製する。この構築物を操作して、ネイティブなタンパク質配列に対応するペプチドを発現させる。「相対的に短い」ペプチドは、一般的に、250アミノ酸長より短く、しばしば100アミノ酸長より短く、好ましくは75アミノ酸長より短く、そしてより好ましくは50アミノ酸長より短い。ワクチン組成物のタンパク質配列を選択する。なぜなら、この配列は、配列内に最大数のエピトープを含むからである（すなわち、この配列は、高いエピトープの集中を有する）。本明細書中で述べられるように、エピトープモチーフがネスト (nested) されてもよいし、重複（すなわち、互いに関してフレームシフトする）であってもよい。例えば、フレームシフトした重複エピトープを有する、2つの9マーのエピトープおよび1つの10マーのエピトープは、10アミノ酸ペプチド中に存在し得る。このようなワクチン組成物を、治療目的または予防目的のために投与する。

## 【0329】

ワクチン組成物は、好ましくは、例えば、3つのCTLエピトープおよびHCV抗原由来の少なくとも1つのHTLエピトープを含む。このポリエピトープのネイティブな配列は、ペプチドとしてかまたはこのペプチドをコードする核酸配列としてかのいずれかで投与される。あるいは、アナログが、このネイティブな配

列から作製され得、これによって、1つ以上のエピトープは、ポリエピトープペプチドの交差反応性および／または結合親和性特性を変化させる置換を含む。

#### 【0330】

本実施例の実施形態は、免疫系プロセッシングの今まで発見されていない局面が、ネイティブなネスト配列 (nested sequence) に適用され、これによって、治療的または予防的な免疫応答を誘導するワクチン組成物の生成を容易にする可能性を提供する。さらなるこのような実施形態は、現在未知であるHLA構造に関するモチーフ保有エピトープの可能性を提供する。さらに、本実施形態（アナログを欠く）は、複数のペプチド配列に対する免疫応答（これは、実際に、ネイティブなHCV抗原に存在する）を指向し、従って、任意の連結エピトープを評価する必要を回避する。最後に、本実施形態は、核酸ワクチン組成物を生成する場合における経済的な指標を提供する。

#### 【0331】

本実施例に関連して、コンピュータプログラムは、当該分野における原理に従って導かれ得、これは、標的配列において、1つの配列長あたりの最も大きい数のエピトープを同定する。

#### 【0332】

（実施例15．複数の疾患に指向されるポリエピトープワクチン組成物）

本発明のHCVペプチドエピトープを、1つ以上の他の疾患に関連する標的抗原由来のペプチドエピトープと共に使用し、HCVならびに1つ以上の他の疾患の、予防または処置に有用であるワクチン組成物を作製する。他の疾患の例としては、HIVおよびHBVが挙げられるが、これらに限定されない。

#### 【0333】

例えば、複数のCTLエピトープおよびHTLエピトープを含むポリエピトープペプチド組成物（これは、集団の98%より多くを標的化する）は、HCV感染およびHIV感染の両方について危険性がある個体に投与するために作製され得る。この組成物は、種々の疾患関連供給源由来の複数のエピトープを組込む単一ポリペプチドとして提供され得るか、または1つ以上の別々のエピトープを含む組成物として投与され得る。

## 【0334】

(実施例16. 免疫応答を評価するためのペプチドの使用)

本発明のペプチドを使用して、前立腺癌関連抗原を指向する特定のCTL集団またはHTL集団の存在について、免疫応答を分析し得る。このような分析は、例えば、Oggら、Science 279:2103-2106、1998およびGretenら、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 95:7568-7573、1998に記載されるようなマルチマー複合体を用いて実施され得る。以下の実施例において、本発明に従うペプチドを、免疫原としてではなく、診断目的または予防目的のための試薬として使用する。

## 【0335】

本実施例において、高度に感受性なヒト白血球抗原テトラマー複合体（「テトラマー」）を、例えば、横断的（cross-sectional）分析（例えば、疾患の異なる段階のHLA A\*0201陽性個体由来のHCV HLA-A\*0201特異的CTL頻度の分析、または引続く、A\*0201モチーフを含むHCVペプチドを用いた免疫の分析）に使用する。テトラマー複合体を、記載されるように合成する（Museyら、N. Engl. J. Med. 337:1267、1997）。簡単に言うと、精製HLA重鎖（本実施例におけるA\*0201）および $\beta$ 2ミクログロブリンを、原核生物発現系的手段によって合成する。この重鎖を、膜貫通細胞質テイルの欠失およびBirA酵素ビオチン化部位を含む配列のCOOH末端添加によって改変する。重鎖、 $\beta$ 2ミクログロブリン、およびペプチドを、希釈によって再度折り畳む。45 kDの再度折り畳まれた生成物を、高速タンパク質液体クロマトグラフィーによって単離し、次いで、ビオチン（Sigma、St. Louis、Missouri）、アデノシン5'三リン酸、およびマグネシウムの存在下で、BirAによってビオチン化する。ストレプトアビジン-フィコエリトリン結合体を、1:4のモル比で添加し、そして、テトラマー生成物を、1 mg/mlに希釈する。生じる生成物を、テトラマー-フィコエリトリンと呼ぶ。

## 【0336】

患者の血液サンプルの分析に関して、約100万個のPBMCを、300 gで

5分間遠心分離し、そして、 $50\mu\text{l}$ の冷リン酸緩衝化生理食塩水に再懸濁する。三色分析を、抗CD8-Tricolor、および抗CD38と共に、テトラマーフィトエリトリンで実施する。PBMCを、テトラマーおよび抗体を用いて氷上で30～60分間インキュベートし、次いで、ホルムアルデヒド固定の前に2回洗浄する。ゲートが、99.98%を超えるコントロールサンプルを含むように適用する。テトラマーについてのコントロールとしては、A\*0201陰性個体およびA\*0201陽性未感染ドナーの両方が挙げられる。次いで、テトラマーで染色された細胞のパーセンテージを、フローサイトメトリーによって決定する。この結果は、エピトープに制限されたCTLを含むPBMCサンプル中の細胞数を示し、これによって、HCVエピトープに対する免疫応答の程度を容易に示し、このようにして、HCV感染の段階または保護的応答もしくは治療的応答を誘発するワクチンへの曝露を示す。

#### 【0337】

(実施例17：リコール応答 (recall response) を評価するためのペプチドエピトープの使用)

本発明のペプチドエピトープを、患者におけるT細胞応答（例えば、急性応答またはリコール応答）を評価するための試薬として使用する。個のような分析は、感染から回復した患者、HCVに慢性的に感染した患者、またはHCVワクチンでワクチン接種された患者に対して実施され得る。

#### 【0338】

例えば、ワクチン接種された個体のクラスI制限CTL応答を、分析し得る。このワクチンは、任意のHCVワクチンであり得る。PBMCを、ワクチン接種された個体およびHLA型の個体から回収する。次いで、好ましくは高度に保存され、かつ必要に応じて、複数のHLAスーパータイプファミリーのメンバーとの交差反応性を提供するスーパーモチーフを保有する本願の適切なペプチドエピトープを、そのHLA型を保有する個体由来のサンプルの分析のために使用する。

#### 【0339】

ワクチン接種された個体由来のPBMCを、Ficoll-Histopaque

ue密度勾配 (Sigma Chemical Co.、St. Louis、MO) 上で分離し、HBSS (GIBCO Laboratories) 中で3回洗浄し、RPMI-1640 (GIBCO Laboratories) (これは、L-グルタミン (2mM)、ペニシリン (50 U/ml)、ストレプトマイシン (50  $\mu$ g/ml)、およびHepes (10mM) が補充され、10% 熱不活性化ヒトAB血清を含む (完全RPMI)) 中に再懸濁し、そして、マイクロ培養 (microculture) 形式を用いてプレートに播く。本発明のエピトープを含む合成ペプチドを、10  $\mu$ g/mlで各ウェルに添加し、そしてHBVコア128~140エピトープを、刺激の最初の週の間に、T細胞補助の供給源として1  $\mu$ g/mlで各ウェルに添加する。

#### 【0340】

マイクロ培養形式において、 $4 \times 10^5$ 個のPBMCを、96ウェルの丸底プレートにおいて100  $\mu$ l/ウェルの完全RPMI中、8個の複製培養物において、ペプチドで刺激する。3日目および10日目に、100mlの完全RPMIおよび20 U/ml最終濃度のrIL-2を各ウェルに添加する。7日目に、培養物を、96ウェルの平底プレートに移し、そして、ペプチド、rIL-2および $10^5$ 個の照射された (3,000 rad) 自系 (autologous) 支持細胞で刺激する。培養物を、14日目に、細胞傷害活性に関して試験する。陽性のCTL応答は、以前に記載されたように (Rehermannら、Nature Med. 2:1104, 1108, 1996; Rehermannら、J. Clin. Invest. 97:1655-1665, 1996; およびRehermannら、J. Clin. Invest. 98:1432-1440, 1996) 未感染のコントロール被験体との比較に基づいて、10%より大きい特異的 $^{51}\text{Cr}$ 放出を示すために、8個の複製培養物のうちの2つ以上を必要とする。

#### 【0341】

標的細胞株は、自系および同種異系のEBV形質転換B-LCLであり、これらは、American Society for Histocompatibility and Immunogenetics (ASHI、Boston)

n、MA) から購入されるか、または記載されたように (Guilhotら、J Virol. 66:2670-2678、1992) 患者のプールから確立されるかのいずれかである。

#### 【0342】

細胞傷害性アッセイを、以下の様式で実施する。標的細胞は、同種異系のHLAが一致したBリンパ芽球細胞株または自系EBV形質転換Bリンパ芽球細胞株のいずれかからなり、これらの細胞株を、 $10\mu\text{l}$ の本発明の合成ペプチドエピトープを共に一晩インキュベートし、そして $100\mu\text{Ci}$ の $^{51}\text{Cr}$  (Amersham Corp.、Arlington Heights、IL)を用いて1時間標識し、この後、これらをHBSSで4回洗浄する。

#### 【0343】

細胞傷害活性を、3,000個の標的／ウェルを含むU底の96ウェルプレートを用いて、標準的な4-h、分裂ウェル (split well)  $^{51}\text{Cr}$ 放出アッセイにおいて決定する。刺激されたPBMCを、14日目に、20～50:1のエフェクター／標的 (E/T) 比で試験する。パーセント細胞傷害性を、式： $100 \times [(\text{実験的な放出} - \text{自発的な放出}) / \text{最大の放出} - \text{自発的な放出}]$ から決定する。最大の放出は、界面活性剤 (2% Triton X-100; Sigma Chemical Co.、St. Louis、MO) によって、標的の溶解により決定する。自発的な放出は、全ての実験について、最大放出の25%未満である。

#### 【0344】

このような分析の結果は、HLA制限CTL集団がHCVまたはHCVワクチンへの以前の曝露によって刺激された程度を示す。

#### 【0345】

クラスII制限HTL応答がまた、分析され得る。精製されたPBMCを、96ウェル平底プレート中、 $1.5 \times 10^5$ 細胞／ウェルの密度で培養し、そして $10\mu\text{g/ml}$ の合成ペプチド、全抗原、またはPHAを用いて刺激する。細胞を、慣用的に、各条件について4～6ウェルの複製でプレートに播く。培養の7日後、この培地を取り除き、そして、 $10\text{U/ml}$ のIL-2を含む新鮮な培地

で置きかえる。2日後、 $1\mu\text{Ci}$   $^3\text{H}$ -チミジンを、各ウェルに添加し、そしてさらなる18時間インキュベーションを続ける。次いで、細胞性のDNAを、ガラスファイバーマット上に収集し、そして、 $^3\text{H}$ -チミジン取りこみについて分析する。抗原特異的T細胞増殖を、抗原の存在下での $^3\text{H}$ -チミジン取りこみを抗原の非存在下での $^3\text{H}$ -チミジン取り込みで割った比として、算出する。

#### 【0346】

(実施例18：ヒトにおける特異的CTL応答の誘導)

本発明のCTLエピトープおよびHTLエピトープを含む免疫原性組成物に関するヒト臨床試験を、INDフェーズI、用量増大研究として設定し、そして、無作為化、二重ブラインドのプラシーボ制御された試験をして実行する。このような試験は、例えば、以下のように設計される：

全部で約27人の被験体を、登録し、そして3群に分ける：

群I：3人の被験体に、プラシーボを注射し、そして6人の被験体に、 $5\mu\text{g}$ のペプチド組成物を注射する；

群II：3人の被験体に、プラシーボを注射し、そして6人の被験体に、 $50\mu\text{g}$ のペプチド組成物を注射する；

群III：3人の被験体に、プラシーボを注射し、そして6人の被験体に、 $500\mu\text{g}$ のペプチド組成物を注射する。

#### 【0347】

最初の注射の4週間後、全ての被験体に同じ投薬量でブースター接種を受けさせる。

#### 【0348】

本研究において測定された終点は、ペプチド組成物の安全性および寛容性ならびにこの組成物の免疫原性に関連する。ペプチド組成物に対する細胞性免疫応答は、このペプチド組成物の固有の活性の指標であり、従って、生物学的効果の測定としてみなされ得る。以下は、臨床データおよび実験室データを要約し、これらのデータは、安全性および効果の終点に関する。

#### 【0349】

安全性：有害事象の発生を、プラシーボ処置群および薬物処置群においてモニ



ターし、そして、程度および可逆性に関して評価する。

#### 【0350】

ワクチン効果の評価：ワクチン効果の評価に関して、被験体を、注射の前および注射の後に採血する。末梢血単核細胞を、新鮮なヘパリン処理された血液から F i c o l l - H y p a q u e 密度勾配遠心分離によって単離し、凍結培地に等分し、そして凍結保存する。サンプルを、CTL活性およびHTL活性についてアッセイする。

#### 【0351】

ワクチンが、安全かつ有効であることの両方を見出した。

#### 【0352】

(実施例19：HCVで感染された患者におけるフェーズII試験)

フェーズII試験を、慢性HCV感染を有する患者へのCHL-HTLペプチド組成物の投与の効果を研究するために実施する。この試験の主要な目的は、アラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT) における一過性拡大 (t r a n s i e n t f l a r e)、ALTの正規化、およびHCV DNAの減少によって明らかにされるように、慢性的に感染されたHCV患者においてCTLを誘導するための有効な用量およびレジメンを決定すること、これらの患者におけるCTL応答およびHTL応答を誘導することの安全性を確立すること、および、どの程度までCTL活性化が慢性的に感染されたCTL患者の臨床状況を改善するかを調べることである。このような研究は、例えば、以下のように設計される：

本研究は、複数の中心で実施する。試験の設計は、オープン標識、非制御、容量増大プロトコル（ここで、ペプチド組成物を、単一用量として投与し、6週間後に同じ用量の単一ブースター注射が続く）である。投薬量は、1回の注射当たり50、500、および5,000  $\mu$ gである。薬物関連有害効果（重篤さおよび可逆性）を、記録する。

#### 【0353】

3つの患者群が存在する。第1の群を、50  $\mu$ gのペプチド組成物で注射し、そして第2群および第3群を、それぞれ、500および5,000  $\mu$ gのペプチド組成物で注射する。各群の中の患者は、年齢が21～65歳の範囲であり、男

性および女性の両方を含み、そして多様な民族背景を表す。この患者ら全員を、HCVで5年間以上感染させ、そして、彼ら全員は、HIV陰性、HBV陰性およびデルタ型肝炎ウイルス（HDV）陰性であるが、陽性レベルのHCV抗原を有する。

#### 【0354】

ALT拡大の大きさおよび発生ならびに血液中のHCV DNAのレベルを、ペプチド組成物の投与の効果の評価するためにモニターする。血液中のHCV DNAのレベルは、処置の進行の間接的な指標である。ワクチン組成物が、慢性HCV感染の処置において、安全かつ有効であることの両方を見出す。

#### 【0355】

（実施例20．プライムブースト（prime boost）プロトコルを用いたCTL応答の誘導）

プライムブーストプロトコルをまた、ワクチンのヒトへの投与のために使用し得る。このようなワクチンレジメンとしては、例えば、裸のDNAの初回投与、続くこのワクチンをコードする組換えウイルスを用いたブースト、または組換えタンパク質／ポリペプチドもしくはアジュバント中に投与されたペプチド混合物の初回投与が挙げられる。

#### 【0356】

例えば、初回免疫は、実施例11に構築されたような発現ベクターを用いて、複数の部位に0.5～5mgの量で、IM（またはSCまたはID）で投与される裸の核酸の形態での形態で、実施され得る。核酸（0.1～1000 $\mu$ g）をまた、遺伝子銃を用いて投与し得る。3～4週間のインキュベーション期間の後、ブースター用量を投与する。このブースターは、例えば、 $5 \times 10^7 \sim 5 \times 10^9$  p f uの用量で投与される組換え鶏痘ウイルスであり得る。代替の組換えウイルス（例えば、MVA、カナリア痘ウイルス、アデノウイルス、またはアデノ随伴ウイルス）をまた、このブースターに使用し得るか、または、ポリエピトープタンパク質もしくはこのペプチドの混合物を投与し得る。ワクチン効果の評価のために、患者の血液サンプルを、免疫前、ならびに処置ワクチンおよびブースター用量のワクチンの投与後の間に得る。末梢血単核細胞を、新鮮なヘパリン処

理された血液からF i c o l l - H y p a q u e 密度勾配遠心分離によって単離し、凍結培地に等分し、そして凍結保存する。サンプルを、C T L 活性およびH T L 活性についてアッセイする。

#### 【0357】

この結果の分析は、保護的免疫を達成するか、またはH C V 感染を処置するのに十分である大きさの応答が生成されることを示す。

#### 【0358】

(実施例21. 樹状細胞を用いたワクチン組成物の投与)

本発明のペプチドエピトープを含むワクチンを、樹状細胞を用いて投与し得る。本実施例において、ペプチドパルスされた樹状細胞を、C T L 応答をインビボで刺激するために患者に投与し得る。本方法において、樹状細胞を単離し、増殖し、そして、本発明のペプチドC T L エピトープおよびペプチドH T L エピトープを含むワクチンでパルスする。樹状細胞を、患者に注入して戻し、インビボにおいてC T L 応答およびH T L 応答を誘発する。次いで、誘導されたC T L およびH T L は、特定の標的H C V 感染細胞（この細胞は、ワクチン中のエピトープが誘導されるタンパク質を保有する）を破壊するか（C T L）またはこの細胞の破壊を容易にする（H T L）。

#### 【0359】

あるいは、特定の腫瘍関連抗原に対するエキソビボのC T L 応答またはH T L 応答は、組織培養物中、患者または一般的に適合性の、C T L またはH T L 前駆体細胞を抗原提示細胞の供給源（例えば、樹状細胞）および適切な免疫原性ペプチドと共にインキュベートすることによって誘導され得る。前駆体細胞が活性化され、エフェクター細胞に拡大される適切なインキュベーション時間（代表的には約7～28日間）の後、細胞を、患者に注射して戻し、ここで、これらの細胞は、それらの特定の標的細胞（すなわち、腫瘍細胞）を破壊するか（C T L）またはそれらの破壊を容易にする（H T L）。

#### 【0360】

(実施例22：モチーフ保有ペプチドを同定する代替方法)

モチーフ保有ペプチドを同定するための別の方法は、規定されたM H C 分子を

保有する細胞からこれらを溶出することである。例えば、組織型決定 (tissue typing) に使用されるEBV形質転換されたB細胞株は、いずれのHLA分子をこの細胞が発現するかを決定するために徹底的に特徴付けられてきた。特定の場合において、これらの細胞は、単一の型のHLA分子のみ発現する。次いで、これらの細胞を、病原性生物（例えば、HCV）で感染し得るか、または目的の抗原を発現する核酸でトランスフェクトし得る。その後、感染の結果（またはトランスフェクトの結果として）産生されたペプチドの内因性抗原プロセッシングによって産生されたペプチドは、細胞表面上に結合して提示される。次いで、これらのペプチドを、温和な酸条件に曝露することによってHLA分子から溶出し、そしてこれらのアミノ酸配列を、例えば、質量スペクトル分析によって決定する（例えば、Kubotaら、J. Immunol. 152:3913、1994）。なぜなら、本明細書中に開示されるように、特定のHLA分子に結合する大部分のペプチドは、モチーフ保有であることから、これは、細胞上に発現された特定のHLA分子に関連したモチーフ保有ペプチドを得るための、代替様式である。

#### 【0361】

あるいは、いずれの内因性HLA分子も発現しない細胞株を、単一のHLA対立遺伝子をコードする発現構築物でトランススフェクトし得る。次いで、これらの細胞を、記載されるように使用し得、すなわち、これらの細胞を、病原もしくは細胞表面上に提示された目的の抗原に対応するペプチドを単離するために、病原性生物で感染し得るか、または目的の抗原をコードする核酸でトランスフェクトし得る。このような分析から得られたペプチドは、この細胞中で発現される単一のHLA対立遺伝子への結合に対応するモチーフを保有する。

#### 【0362】

当業者には明らかなように、当業者は、1より多くのHLA対立遺伝子を保有する細胞について同様の分析を実施し得、そして引続いて発現される各HLA対立遺伝子に特異的なペプチドを決定し得る。さらに、当業者はまた、感染またはトランスフェクト以外の手段（例えば、タンパク質抗原を用いたローディング (loading)）が、細胞に抗原の供給源を提供するために使用され得ることを

認識する。

【0363】

上記の実施例は、本発明の範囲を制限するためではなく、本発明を例示するために提供した。例えば、主要組織適合遺伝子複合体（すなわち、HLA）に関する人間用語を、本文書を通じて使用する。これらの原理が、他の種も同様に拡張され得ることが理解される。従って、本発明の他の改変は、当業者に容易に明らかであり、そして添付の特許請求の範囲に含まれる。本明細書中に引用される全ての刊行物、特許および特許出願は、全ての目的に関して本明細書中によって参考として援用される。

【0364】

【表2】

表 I

スーパーモチーフ	位置	位置	位置
	2 (一次アンカー)	3 (一次アンカー)	C 末端 (一次アンカー)
A1	T, I, L, V, M, S		F, W, Y
A2	L, I, V, M, A, T, Q		I, V, M, A, T, L
A3	V, S, M, A, T, L, I		R, K
A24	Y, F, W, I, V, L, M, T		F, I, Y, W, L, M
B7	P		V, I, L, F, M, W, Y, A
B27	R, H, K		F, Y, L, W, M, I, V, A
B44	E, D		F, W, L, I, M, V, A
B58	A, T, S		F, W, Y, L, I, V, M, A
B62	Q, L, I, V, M, P		F, W, Y, M, I, V, L, A
モチーフ			
A1	T, S, M		Y
A1		D, E, A, S	Y
A2.1	L, M, V, Q, I, A, T		V, L, I, M, A, T
A3	L, M, V, I, S, A, T, F, C, G, D		K, Y, R, H, F, A
A11	V, T, M, L, I, S, A, G, N, C, D, F		K, R, Y, H
A24	Y, F, W, M		F, L, I, W
A*3101	M, V, T, A, L, I, S		R, K
A*3301	M, V, A, L, F, I, S, T		R, K
A*6801	A, V, T, M, S, L, I		R, K
B*0702	P		L, M, F, W, Y, A, I, V
B*3501	P		L, M, F, W, Y, I, V, A
B51	P		L, I, V, F, W, Y, A, M
B*5301	P		I, M, F, W, Y, A, L, V
B*5401	P		A, T, I, V, L, M, F, W, Y

太字の残基は好ましく、斜字の残基はさほど好ましくない：ペプチドが、上記表に特定するようなモチーフまたはスーパーモチーフのための各一次アンカー位置に一次アンカーを有する場合に、このペプチドはモチーフを保有するとみなされる。

【0365】

【表3】

表 II

位置

	1	2	3	4	5	6	7	8	C 末端
ス-パ-モ-チ-7									
A1		1°TZA- T, L, V, M, S							1°TZA- F, W, Y
A2		1°TZA- L, I, V, M, A, T, Q							1°TZA- L, I, V, M, A, T
A3	好ましい	1°TZA- V, S, M, A, T, L, J	Y, F, W (4/5)			Y, F, W (3/5)	Y, F, W (4/5)	P (4/5)	1°TZA- R, K
有客	D, E (3/5); P (5/5)		D, E (4/5)						
A24		1°TZA- Y, F, W, I, V, L, M, T							1°TZA- F, I, Y, W, L, M
B7	好ましい	F, W, Y (5/5); L, I, V, M (3/5)	1°TZA- P	F, W, Y (4/5)				F, W, Y (3/5)	1°TZA- V, I, L, F, M, W, Y, A
有客	D, E (3/5); P (5/5); G (4/5); A (3/5); Q, N (3/5)				D, E (3/5)	G (4/5)	Q, N (4/5)	D, E (4/5)	
B27		1°TZA- R, H, K							1°TZA- F, Y, L, W, M, V, A
B44		1°TZA- E, D							1°TZA- F, W, Y, L, I, M, V, A
B58		1°TZA- A, T, S							1°TZA- F, W, Y, L, I, V, M, A
B62		1°TZA- Q, L, I, V, M, P							1°TZA- F, W, Y, M, I, V, L, A

(表IIの続き)

		位置									
		1	2	3	4	5	6	7	8	C末端	
<u>モチ-7</u>											
AI	好ましい	GF,Y,W	$\frac{1^{\circ}T\cancel{Z}\cancel{D}}{S,T,M}$	DE,A	Y,F,W		P	D,E,Q,N	Y,F,W	$\frac{1^{\circ}T\cancel{Z}\cancel{D}}{Y}$	
	有害	DE		$\frac{R,H,K,L,I,V}{M,P}$	A	G	A				
<u>モチ-9</u>											
AI	好ましい	GR,H,K	$\frac{A,S,T,C,L,I}{V,M}$	$\frac{1^{\circ}T\cancel{Z}\cancel{D}}{D,E,A,S}$	G,S,T,C		A,S,T,C	L,I,V,M	D,E	$\frac{1^{\circ}T\cancel{Z}\cancel{D}}{Y}$	
	有害	A	$\frac{R,H,K,D,E}{P,Y,F,W}$		DE	P,Q,N	R,H,K	P,G	GP		



(表IIの続き)

位置									
1	2	3	4	5	6	7	8	9 または C末端	C末端
A1 10 <sup>7</sup> - 好ましい	Y,F,W	$\frac{1^{\circ}T\text{Z}\text{Z}\text{Z}}{S,T,M}$	D,E,A,Q,N A	Y,F,W,Q,N	P,A,S,T,C	G,D,E	P	$\frac{1^{\circ}T\text{Z}\text{Z}\text{Z}}{Y}$	
有官	G,P	R,H,K,G,L,J V,M	D,E	R,H,K	Q,N A	R,H,K,Y,F, W	R,H,K A		
A1 10 <sup>7</sup> - 好ましい	Y,F,W	$\frac{S,T,C,L,I,V}{M}$	A	Y,F,W	P,G	G	Y,F,W	$\frac{1^{\circ}T\text{Z}\text{Z}\text{Z}}{Y}$	
有官	R,H,K	R,H,K,D,E, P,Y,F,W		P	G	P,R,H,K	Q,N		
A2.1 9 <sup>7</sup> - 好ましい	Y,F,W	$\frac{1^{\circ}T\text{Z}\text{Z}\text{Z}}{L,M,I,V,Q,A,T}$	Y,F,W	S,T,C	A	P	$\frac{1^{\circ}T\text{Z}\text{Z}\text{Z}}{V,L,I,M,A,T}$		
有官	D,E,P	D,E,R,K,H		R,K,H	D,E,R,K,H				
A2.1 10 <sup>7</sup> - 好ましい	A,Y,F,W	$\frac{1^{\circ}T\text{Z}\text{Z}\text{Z}}{L,M,I,V,Q,A,T}$	L,V,I,M	G	G	F,Y,W, L,V,I,M	$\frac{1^{\circ}T\text{Z}\text{Z}\text{Z}}{V,L,I,M,A,T}$		
有官	D,E,P	D,E	R,K,H A	P	R,K,H	D,E,R, K,H			

(夜Ⅱの続き)

位置									
	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨ C末端
A3 好ましい	R,H,K	1°7'22"- L,M,V,I,S, A,T,F,C,G D	Y,F,W	P,R,H,K,Y, F,W	A	Y,F,W		P	C末端 1°7'22"- K,Y,R,H,F,A
有害	D,E,P		D,E						
A11 好ましい	A	1°7'22"- V,T,L,M,I, S,A,G,N,C, D,F	Y,F,W	Y,F,W	A	Y,F,W	Y,F,W	P	1°7'22"- K,R,Y,H
有害	D,E,P						A	G	
A24 9マ- 好ましい	Y,F,W,R,H,K	1°7'22"- Y,F,W,M		S,T,C			Y,F,W	Y,F,W	1°7'22"- F,L,I,W
有害	D,E,G		D,E	G	Q,N,P	D,E,R,H,K	G	A,Q,N	
A24 10マ- 好ましい		1°7'22"- Y,F,W,M		P	Y,F,W,P		P		1°7'22"- F,L,I,W
有害	R,H,K		G,D,E	Q,N	R,H,K	D,E	A	Q,N	D,E,A
A3101 好ましい		1°7'22"- M,V,T,A,L, I,S	Y,F,W	P		Y,F,W	Y,F,W	A,P	1°7'22"- R,K
有害	D,E,P		D,E		A,D,E	D,E	D,E	D,E	

(表Ⅱの続き)

位置									
	11	12	13	14	15	16	17	18	19
A3301 好ましい		$\frac{1^{\circ}7'7''}{M,V,A,L,F,}$ I,S,T	Y,F,W				A,Y,F,W		C本端 または C末端 $\frac{1^{\circ}7'7''}{R,K}$
有害	G,P		D,E						
A6801 好ましい	Y,F,W,S,T,C	$\frac{1^{\circ}7'7''}{A,V,T,M,S,}$ L,I		Y,F,W,L,I, V,M			Y,F,W	P	$\frac{1^{\circ}7'7''}{R,K}$
有害	G,P		D,E,G		R,H,K			A	
B0702 好ましい	R,H,K,F,W,Y	$\frac{1^{\circ}7'7''}{P}$	R,H,K		R,H,K	R,H,K	R,H,K	P,A	$\frac{1^{\circ}7'7''}{L,M,F,W,Y,I,}$ I,P
有害	D,E,Q,N,P		D,E,P	D,E	D,E	G,D,E	Q,N	D,E	
B3501 好ましい	F,W,Y,L,I,V,M	$\frac{1^{\circ}7'7''}{P}$	F,W,Y				F,W,Y		$\frac{1^{\circ}7'7''}{L,M,F,W,Y,I,}$ I,A
有害	A,G,P				G	G			

(表IIの続き)

		位置								
		11	12	13	14	15	16	17	18	19 または C末端
B51	好ましい	L,I,V,M,F,W,Y	$\frac{1077}{P}$	F,W,Y	S,T,C	F,W,Y		G	F,W,Y	$\frac{1077}{C末端}$ L,I,V,F,W, Y,A,M
	有害	A,G,P,D,E,R,H,K, S,T,C				D,E	G	D,E,Q,N	G,D,E	
B5301	好ましい	L,I,V,M,F,W,Y	$\frac{1077}{P}$	F,W,Y	S,T,C	F,W,Y		L,I,V,M,F, W,Y	F,W,Y	$\frac{1077}{I,M,F,W,Y,A,L,Y}$
	有害	A,G,P,Q,N					G	R,H,K,Q,N	D,E	
B5401	好ましい	F,W,Y	$\frac{1077}{P}$	$\frac{F,W,Y,L,I,V}{M}$		L,I,V,M		A,L,I,V,M	F,W,Y,A,P	$\frac{1077}{A,T,I,V,L,M,F,W,Y}$
	有害	G,P,Q,N,D,E		G,D,E,S,T,C		R,H,K,D,E	D,E	Q,N,D,G,E	D,E	

斜字の残基は、さほど好ましくないかまたは「黙認された」残基を示す。  
表 I I の情報は、他に特定しない限り、9 マーに特定である。

【0366】

【表4】

【表5】

表 III

モチーフ		位置					
		1°アムカー-1	2	3	4	5	1°アムカー-6
DR4	好ましい	F, M, Y, L, I, V, W	M	T		I	V, S, T, C, P, A, L, I, M
	有害				W,		R, M, H, W, D, E
DR1	好ましい	M, F, L, I, V, W, Y			P, A, M, Q		V, M, A, T, S, P, L, I, C
	有害		C	C, H	F, D	C, W, D	G, D, E, D
DR7	好ましい	M, F, L, I, V, W, Y	M	W	A		I, V, M, S, A, C, T, P, L
	有害		C,		G,		G, R, D N
DR	スーパーモチーフ	M, F, L, I, V, W, Y					V, M, S, T, A, C, P, L, I
DR3	モチーフ	1°アムカー-1	2	3	1°アムカー-4	5	1°アムカー-6
モチーフa	好ましい	L, I, V, M, F, Y				D	
モチーフb	好ましい	L, I, V, M, F, A, Y			D, N, Q, E, S, T		K, R, H

斜字の残基は、さほど好ましくないかまたは「黙認された」残基を示す。

表 IV: HLA クラス I 標準ペプチド結合親和性

対立遺伝子	標準ペプチド	配列 (配列番号)	標準結合親和性 (nM)
A*0101	944.02	YLEPAIAKY	25
A*0201	941.01	FLPSDYFPSV	5.0
A*0202	941.01	FLPSDYFPSV	4.3
A*0203	941.01	FLPSDYFPSV	10
A*0205	941.01	FLPSDYFPSV	4.3
A*0206	941.01	FLPSDYFPSV	3.7
A*0207	941.01	FLPSDYFPSV	23
A*6802	1072.34	YVIKVSARV	8.0
A*0301	941.12	KVFPYALINK	11
A*1101	940.06	AVDLYHFLK	6.0
A*3101	941.12	KVFPYALINK	18
A*3301	1083.02	STLPETYVRR	29
A*6801	941.12	KVFPYALINK	8.0
A*2402	979.02	AYIDNYNKF	12
B*0702	1075.23	APRTLVL	5.5
B*3501	1021.05	FPFKYAAAF	7.2
B51	1021.05	FPFKYAAAF	5.5
B*5301	1021.05	FPFKYAAAF	9.3
B*5401	1021.05	FPFKYAAAF	10

【0368】

【表6】

表 V. HLA クラスII 標準ペプチド結合親和性

対立遺伝子	命名	標準 ペプチド	配列 (配列番号)	結合 親和性 (nM)
DRB1*0101	DR1	515.01	PKYVKQNTLKLAT	5.0
DRB1*0301	DR3	829.02	YKTIAFDEEARR	300
DRB1*0401	DR4w4	515.01	PKYVKQNTLKLAT	45
DRB1*0404	DR4w14	717.01	YARFQSQTTLKQKT	50
DRB1*0405	DR4w15	717.01	YARFQSQTTLKQKT	38
DRB1*0701	DR7	553.01	QYIKANSKFIGITE	25
DRB1*0802	DR8w2	553.01	QYIKANSKFIGITE	49
DRB1*0803	DR8w3	553.01	QYIKANSKFIGITE	1600
DRB1*0901	DR9	553.01	QYIKANSKFIGITE	75
DRB1*1101	DR5w11	553.01	QYIKANSKFIGITE	20
DRB1*1201	DR5w12	1200.05	EALHQLKINPYVLS	298
DRB1*1302	DR6w19	650.22	QYIKANAKFIGITE	3.5
DRB1*1501	DR2w2β1	507.02	GRTQDENPVVHFFKNIV TPRTPPP	9.1
DRB3*0101	DR52a	511	NGQIGNDPNRDIL	470
DRB4*0101	DRw53	717.01	YARFQSQTTLKQKT	58
DRB5*0101	DR2w2β2	553.01	QYIKANSKFIGITE	20

【0369】

【表7】

表 VI

HLAスーパタイプ	対立遺伝子	対立遺伝子	対立遺伝子
A1	A*0101, A*2501, A*2601, A*2602, A*3201	A*0102, A*2604, A*3601, A*4301, A*8001	A*0102, A*2604, A*3601, A*4301, A*8001
A2	A*0201, A*0202, A*0203, A*0204, A*0205, A*0206, A*0207, A*0209, A*0214, A*6802, A*6901	A*0208, A*0210, A*0211, A*0212, A*0213	A*0208, A*0210, A*0211, A*0212, A*0213
A3	A*0301, A*1101, A*3101, A*3301, A*6801	A*0302, A*1102, A*2603, A*3302, A*3303, A*3401, A*3402, A*6601, A*6602, A*7401	A*0302, A*1102, A*2603, A*3302, A*3303, A*3401, A*3402, A*6601, A*6602, A*7401
A24	A*2301, A*2402, A*3001	A*2403, A*2404, A*3002, A*3003	A*2403, A*2404, A*3002, A*3003
B7	B*0702, B*0703, B*0704, B*0705, B*1508, B*3501, B*3502, B*3503, B*3504, B*3505, B*3506, B*3507, B*3508, B*5101, B*5102, B*5103, B*5104, B*5105, B*5301, B*5401, B*5501, B*5502, B*5601, B*5602, B*6701, B*7801	B*1511, B*4201, B*5901	B*1511, B*4201, B*5901
B27	B*1401, B*1402, B*1509, B*2702, B*2703, B*2704, B*2705, B*2706, B*3801, B*3901, B*3902, B*7301	B*2701, B*2707, B*2708, B*3802, B*3903, B*3904, B*3905, B*4801, B*4802, B*1510, B*1518, B*1503	B*2701, B*2707, B*2708, B*3802, B*3903, B*3904, B*3905, B*4801, B*4802, B*1510, B*1518, B*1503
B44	B*1801, B*1802, B*3701, B*4402, B*4403, B*4404, B*4405, B*4406	B*4101, B*4501, B*4701, B*5001	B*4101, B*4501, B*4701, B*5001
B58	B*5701, B*5702, B*5801, B*5802, B*1516, B*1517		
B62	B*1501, B*1502, B*1513, B*5201	B*1301, B*1302, B*1504, B*1505, B*1506, B*1507, B*1515, B*1520, B*1521, B*1512, B*1514, B*1510	B*1301, B*1302, B*1504, B*1505, B*1506, B*1507, B*1515, B*1520, B*1521, B*1512, B*1514, B*1510

a. 特異性がプール配列決定分析、ペプチド結合アッセイ、またはCTLエピソードの配列の分析によって決定された対立遺伝子を含む、検証した対立遺伝子。

b. 予測した対立遺伝子は、その特異性が、BおよびFポケット構造がスーパータイプ特異性とオーバーラップすることに基いて予測される、対立遺伝子である。

【0370】

【表8】



表 VII

HCY A01 スパ-モチ-フ(結合情報を含む)

配列	位置	アミノ酸の数	配列 頻度	保存率 (%)	A*0101
ATGNPGCSF	185	10	13	93	
ATLGGAY	1285	8	14	109	
AVWNGRLAF	1917	11	14	100	
CTGSSSLY	1128	9	11	79	0.3700
CTRGVAAYDF	1190	11	11	78	
CYWMASITGF	555	9	11	79	
CYCTVDF	1462	9	11	79	
CLEWSTW	1657	9	12	88	
ETNRSPIF	1207	9	12	86	
FSIDIRCF	1207	9	12	88	
FTGTHIDAF	2870	8	11	79	
FTGTHIDAF	2782	8	14	100	
GLPVQCHLF	1557	11	13	93	
GLSAFSLHSY	1552	11	12	86	
GLTHDAF	2921	10	11	78	
GSSYGEV	1589	9	13	83	0.0029
GTFPNAT	2841	8	11	79	
GVAQALVAF	2053	8	11	79	
GVAQVDF	1853	8	12	88	
GVLAAALAY	1870	8	11	78	
GVRNCEQALY	2819	11	12	88	
GVRLEDQWY	154	11	14	109	
HUCNMGQY	686	11	12	88	
HAMNRSQDY	1759	11	11	79	
HNFGEQWQW	1910	11	13	93	
IAADREVF	2581	11	11	79	
ITYSTYGEF	1296	8	12	88	
NOVQILY	701	8	12	88	
KSTKVPAAV	1241	8	12	88	0.6150
KVDITLQDF	121	10	12	88	
LEANLLW	2235	8	12	88	
LNINSSW	414	8	12	88	
LLAPTAY	1030	8	11	78	
LPNLEGW	1812	9	14	100	
LSRPSRSPSW	97	11	12	86	
LSAFSLHSY	2822	9	11	79	0.8100
LPFGSPSPSW	88	10	11	79	
LTCSEALAGY	126	11	12	88	
LTIDDAF	1570	8	12	88	
LYDLAST	1853	8	13	93	
MLMTRFF	2878	8	11	79	
NVDVQILY	700	8	12	88	0.0580
NPGSSSF	158	10	12	88	
NICVITVDF	1480	10	13	93	
NINRRCQWF	14	11	12	86	
		11	11	79	

(表Ⅷの続き)

HCY A01 スーパーモナー7 (結合情報を含む)

【0371】

【表9】

配列	位置	アミノ酸の数	自己列 頻度	保存率 (%)	A*0101
WDOOLGVW	1108	9	11	79	
PITYSTYCKF	1205	10	11	79	
FMGFSYDTRCF	2887	11	11	78	
PSVAATLGF	1281	9	14	100	
PTLHGPTLLY	1821	11	11	79	
PMODHLEF	1554	9	12	86	
PMODHLERW	1554	10	12	86	
QTVDFSLDTF	1485	11	12	86	
FLHLSAF	2918	8	12	88	
RLARITAY	1029	9	12	86	
RMAYDMMANW	317	10	12	86	
RMILMTIF	2875	8	12	86	
RMILMTIFF	2875	9	12	86	
RMCEOMALY	2621	9	14	100	
RMECGWY	156	9	12	86	
STKVPAAV	1242	8	12	86	
SVAATLGF	1262	8	14	100	
SVAATLGFAY	1262	11	14	100	
TMWNGNEVF	2590	9	11	79	0.0300
TLHGPTLLY	1822	10	11	79	
TLRNLLGW	1811	10	12	88	
TTINAKNEVF	2589	10	11	79	
YTNKSPVF	1208	8	12	88	
TWDFSLDTF	1466	10	12	88	
WDTLTQGF	122	9	12	88	
VLAALAY	1871	8	12	88	
VLECGWY	167	8	12	88	
VLYDLAGY	1852	9	11	79	
VMGSSYGF	2639	8	11	79	
VMGSSYGFCT	2639	10	11	79	
WANNRLAF	1820	8	14	100	
YSPGQNEF	2648	9	11	79	
YTNDOOLGVW	1106	11	11	79	
YWCLOOSVF	276	10	12	88	
		2			

79



(表Ⅳの続き)

## HCV A01 スパノモナーフ (結合情報を含む)

保存率	頻度	位置	配列	A*0201	A*0202	A*0203	A*0206	A*5802
79	11	1653	CHSAQLEW	0.0067				
79	11	1653	CHSAQLEWT					
78	11	1128	CTGSSDL					
78	11	1128	CTGSSDLN					
79	11	1128	CTGSSDLYL					
79	11	1190	CTRGVAKA					
79	11	1190	CTRGVAKV					
79	11	555	CTYNNISTET					
86	12	1402	CYTDTDFSL	0.0006				
79	11	1527	DAGCAWTEL					
100	14	1574	DAFLSOT					
86	12	1855	DLAQYOA	0.0002				
79	11	1855	DLAGYGAV					
79	11	1855	DLARYGAGVA					
88	12	278	DLCSSFL	0.0007				
79	11	278	DLCSSFLV					
80	12	1957	DLEWTST	0.0002				
88	12	1657	DLEWTSTWV					
86	12	1657	DLEWTSTWVL					
93	13	2617	DLEWTVGERAL					
93	13	2617	DLEWTVGERAL					
79	11	132	DLNGYPL					
79	11	132	DLNGYPLV					
79	11	152	DLNGYPLVGA					
79	11	2412	DLSGGSWST					
79	11	2412	DLSGGSWSTV					
79	11	1883	DLVNLPA	0.0008				
79	11	1883	DLVNLPAI					
79	11	1883	DLVNLPAII	0.0001				
79	11	2772	DLVNDISA	0.0001				
86	12	1134	DLVLTTHIA					
86	12	1134	DLVLTTHIAV					
86	12	321	DVAMNWSPT					
86	12	1338	DOAETAGA					
89	12	1338	DOAETAGAIL					
88	12	1338	DOAETAGARLV					
86	12	994	DTAAGGDI					
88	12	994	DTAAGGDI					
88	12	124	DTLTGCFPA					
88	12	124	DTLTGCFADL					
86	12	124	DTLTGCFADLM					
93	13	2673	DTNCFDUST					

HCV AD2 スーパーモーター (結合情報を含む)

保序率	頻度	位置	配列	A*0201	A*0202	A*0203	A*0206	A*0002
93	13		DTICFDSIV					
93	13		DTICFDSIVT					
88	12		DWTFGGGG	0.0001				
88	12		DWTFGGGON					
79	11		EWLEKLV					
100	14		EWMTYSA					
86	12		EWMLWRDEN					
93	13		EPFYGKA					
83	13		EPFYKAI	0.0001				
100	14		ELTSCSNW	0.0002				
79	11		ELSPULST					
79	11		ELSPULLST					
80	12		EWGQNTIV					
86	12		EDPCKAL	0.0003				
86	12		EDPKKALGL					
86	12		EDPKKALGLL					
88	12		ETAGARLV					
86	12		ETAGARLVW					
86	12		ETAGARLVWL					
86	12		ETAGARLVWLA					
88	12		ETIMRSPV					
86	12		ETIMRSPVFT					
88	12		EWYSTWV	0.0001				
88	12		EWYSTWVL	0.0004				
86	12		EWYSTWVLY					
93	13		FADLNGYI					
79	11		FADLNGYIPL					
79	11		FADLNGYIPLV					
100	14		FASRGNW					
86	12		FASRGNWSP					
86	12		FISGJOYL	0.1000				
100	14		FISGJOYLA					
100	14		FISGJOYLGL					
79	11		FLALGCSGA	0.0048				
88	12		FLALGCL					
86	12		FLALGCLT					
93	13		FLILADNV					
86	12		FOVAHHA					
88	12		FOVAHHAFT					
79	11		FQNGGON	0.2800	0.0400	0.0670	0.0150	0.3800
100	14		FTEAMTRYSA					
93	13		FTGLTHDA					

(表Ⅳの続き)

HCV A01 スーパーモーフ (結合情報を含む)

保存率	頻度	位置	並び列	A*0201	A*0202	A*0203	A*0206	A*5802
93	13	512	FTSPVWV					
93	13	512	FTSPVWGT					
93	13	512	FTSPWVGT					
79	11	584	FTLPALST					
79	11	584	FTLPALSTGL					
79	11	146	GAVALANGV					
86	12	992	GAITAACDDI					
86	12	992	GAITAACDDH					
86	12	1061	GAGVREAL					
86	12	1061	GAGVAGALV					
86	12	1061	GAGVAGALVA					
86	12	350	GAHNSVLA					
79	11	1095	GALVWGW					
79	11	1095	GALVWGWCA					
79	11	1095	GALVWGWCAA					
86	12	1345	GARLVULA					
79	11	1345	GARLVYLAT					
79	11	1345	GARLVYLATA					
100	14	1816	GAVWMMRL	0.0001				
100	14	1816	GAVWMMRLA					
100	14	1333	GRITVLDCA					
100	14	1333	GRITVLDCAET					
100	14	1778	GRVLAQL					
100	14	1778	GRVLAQLST					
100	14	1778	GRVLAQLSTL					
79	11	1426	GLVSVPT					
93	13	1552	GLVACDHL	0.0001				
79	11	968	GLRLAVA					
100	14	968	GLRLAVAV					
79	11	1782	GLSTLPNFA	0.0034				
79	11	1782	GLSTLPNPAI					
93	13	1589	GLTIDANFL					
82	13	28	GVVCCVYL	0.0007				
93	13	28	GVVGVVYL					
79	11	2063	GTFPNAVY					
79	11	2063	GTFPNAVYTT					
100	14	1335	GTVIDONET					
100	14	1335	GTVIDONETA					
86	12	1062	GVAGALVA					
79	11	1061	GVGVTVHGA					

(表Ⅳの続き)

HCV ADI スパースマトリクス (結合情報を含む)

保存率	頻度	位置	配列	A*0201	A*0202	A*0203	A*0206	A*0802
88	12	1870	GVLAALAA					
85	12	1670	GVLAALAAVCL					
78	11	161	GVYATGRL	0.0001				
66	12	45	GVYATGRL					
100	14	2819	GVYATGRL					
100	14	2819	GVYATGRL					
100	14	2819	GVYATGRL					
93	13	154	GVYATGRL	0.0002				
78	11	1900	GVYATGRL	0.0001				
100	14	1234	GVYATGRL					
100	14	1572	GVYATGRL					
66	12	886	GVYATGRL					
78	11	1719	GVYATGRL					
93	13	1769	GVYATGRL					
78	11	608	GVYATGRL					
78	11	222	GVYATGRL					
86	12	2855	GVYATGRL					
86	12	2855	GVYATGRL					
79	11	1810	GVYATGRL					
79	11	1810	GVYATGRL					
86	12	1833	GVYATGRL					
100	14	1825	GVYATGRL					
78	11	1856	GVYATGRL					
70	11	1858	GVYATGRL					
88	12	1810	GVYATGRL					
86	12	1816	GVYATGRL					
86	12	1816	GVYATGRL					
86	12	1331	GVYATGRL					
86	12	1331	GVYATGRL					
93	13	1891	GVYATGRL					
93	13	1891	GVYATGRL					
93	13	1891	GVYATGRL					
78	11	2521	GVYATGRL					
100	14	1777	GVYATGRL					
100	14	1777	GVYATGRL					
88	12	2250	GVYATGRL					
88	12	2250	GVYATGRL					
100	14	2816	GVYATGRL					
100	14	2816	GVYATGRL					
100	14	2816	GVYATGRL					
86	12	308	GVYATGRL					
86	12	308	GVYATGRL					

(表Ⅳの続き)

HCVA01スパーモーター7(結合情報を含む)

保存率	頻度	位置	配列	A*0201	A*0202	A*0203	A*0208	A*0502
79	11	1296	ITYSTYQKFL					
79	11	1295	ITYSTYQKFLA					
79	11	2813	NFPDLGV					
79	11	2813	NFPDLGVV	0.0018				
83	13	30	NGGVYLL					
86	12	1738	KALGLLOT					
86	12	1738	KALGLLQTA					
86	12	2825	KMALYQV					
86	12	1734	KOKALELL					
86	12	1734	KOKALGLLOT					
86	12	1734	KOKALGLLQTA					
86	12	121	KVDTLTCGFA					
100	14	1255	KVLMNPSV	0.0048				
100	14	1255	KVLMNPSVA					
100	14	1255	KVLMNPSVAA					
86	12	1244	KVPMAYAA					
86	12	1872	LAALAAYCL	0.0011				
79	11	1305	LAGGSCSOGA					
86	12	1729	LAEDFKOKA					
86	12	1729	LAEDFKOKAL					
79	11	1057	LAGYGAGV					
79	11	1857	LAGYGAGVA					
79	11	1657	LAGYGAGVAGA					
100	14	151	LAHGYRVL					
86	12	179	LALLSCLT					
79	11	972	LAVAVEPV					
100	14	1924	LAPASRGHIV					
100	14	2815	LITCSNV	0.0004				
100	14	2815	LITCSNVSV					
79	11	2812	LVPDLGV	0.0002				
79	11	2812	LVPDLGVV					
86	12	178	LUALSCL					
86	12	178	LUALSCLT					
100	14	728	LLFILLADA	0.0230	0.0150	0.0220	0.0011	0.0130
53	13	728	LLFILLADARV	1.2008	0.0380	3.1000	0.1800	1.2000
86	12	1812	LFNLGGW					
86	12	1812	LFNLGGWVA					
93	13	729	LLADARV	0.0081				
93	13	1807	LLPAILSPGA					
93	13	1807	LLPAILSPBAL					
83	13	38	LUPHGHFL	0.0025				
93	13	38	LUPHGHFLGV					



HCV AB2 スーパーモーター (結合情報を含む)

保壽率	頻度	位置	配列
85	12	2240	LVYKEMGON
93	13	1629	LLYRLGAV
79	11	133	LMGYRLV
79	11	133	LMGYFLVGA
85	12	2761	LOOETMAY
88	12	128	LTCGFADL
88	12	128	LTCGFADLM
100	14	2180	LTOPSHIT
100	14	2180	LTOPSHITA
88	12	1052	LTCRKNNOV
93	13	1570	LTIIDAHFL
93	13	2178	LTSMLTOPSHI
79	11	2738	LTTSCGNT
79	11	2738	LTTSCGNTL
79	11	2738	LTTSCGNTLT
88	12	1581	LVAYQATV
86	12	1591	LVAYQATVCA
79	11	1863	LVOLAGYGA
88	12	1867	LVGGVLAAL
88	12	1867	LVGGVLAAL
88	12	1867	LVGGVLAALAA
80	12	1867	LVGGVLAALAA
100	14	1257	LVLPNSVA
100	14	1257	LVLPNSVAA
100	14	1257	LVLPNSVAAT
100	14	1257	LVLPNSVAATL
79	11	1884	LVNLLPN
79	11	1884	LVNLLPAL
88	12	1137	LVTRHADV
79	11	1137	LVTRHADVI
79	11	1137	LVTRHADVPV
79	11	1897	LVGWCA
79	11	1897	LVGWCAAA
79	11	1897	LVGWVCAAI
79	11	1897	LVGWVCAAL
79	11	2773	LVWCEA
79	11	2773	LVWCEA
88	12	1348	LVWLATAT
86	12	2582	MAKREVCV
100	14	2179	MLTOPSHI
100	14	2178	MLTOPSHIT
100	14	2179	MLTOPSHITA
83	13	322	MAKRWST

(表Ⅳの続き)

HCV A02 スーパー-モナー7 (結合情報を含む)

保存率	頻度	位置	配列	A*0201	A*0202	A*0203	A*0206	A*5802
93	19	1418	NAVAYRGL					
93	13	1418	NAVAYRGLDV					
88	12	2068	NAYTTGPCT					
86	12	1815	NLGGWVA					
86	12	1815	NLGGWAA					
88	12	1815	NLGGWAAQL					
93	13	1212	NRTGVRT	0.0001				
79	11	1222	NRTGVRTI					
79	11	1282	NRTGVRTIT					
79	11	1282	NRTGVRTITT					
86	12	2249	NTRVESENV					
86	12	700	NVDVYL					
88	12	118	NLGNVOT	0.0008				
80	12	118	NLGNVDTL					
86	12	118	NLGNVDTLT					
93	13	1888	NLLPAILSPGA					
88	12	2239	NLWKEEM					
83	13	188	NLPGCFSEI	0.0041				
93	13	188	NLPGCFSEL					
86	12	1460	NLCVDTIV					
93	13	418	NINKEWH					
86	12	14	NINRPODV					
93	13	1889	PAIISGA					
93	13	1889	PAISPGAL					
86	12	1889	PAISPGALV					
88	12	1889	PAISPGALVV					
86	12	688	PAISTGU					
86	12	688	PAISTELHL					
79	11	2609	PAIIVFPDL					
79	11	2086	PIVATITGPCT					
79	11	1285	PIVSTYGNEL					
93	13	2403	PIEIEPDEL					
79	11	143	PLGGARA					
79	11	143	PLGGARAL	0.0001				
79	11	143	PLGGARALALA					
93	13	1828	PLYRLGA					
93	13	1828	PLYRLGAV	0.0001				
79	11	2667	PIVIESYOT					
79	11	2807	POPEVLEL					
79	11	2407	POPEVLELI					
79	11	2807	POPEVLEUT					
93	13	7	PORTVNT					

(表Ⅲの続き)

HCVADELZ-バ-モ-ア-フ(結合情報を含む)

保存率	頻度	位置	配列	A*0201	A*0202	A*0203	A*0206	A*5802
86	12	109	PTDPRRSNHL					
79	11	1473	PTFTIETT					
79	11	1473	PTFTIETT					
100	14	1238	PTGSGKST					
93	13	1238	PTGSGKSTKV					
86	12	1936	PTIYWPESDA					
86	12	1936	PTIYWPESDA					
79	11	1621	PTLHGPTPL					
79	11	1621	PTLHGPTPL					
79	11	1621	PTLHGPTPL					
79	11	2870	PTLWARMIL					
79	11	2870	PTLWARMIL					
79	11	2870	PTLWARMIL					
79	11	2870	PTLWARMIL					
100	14	1828	PTLLYLRL					
93	13	1828	PTLLYLRLGA					
93	13	1828	PTLLYLRLGA					
100	14	2857	PNSWLGNI	0.0001				
100	14	2857	PNSWLGNI	0.0001				
86	12	2857	PNSWLGNI					
79	11	2318	PVAKGCP					
93	13	508	PVCFPTSPV	0.0004				
93	13	508	PVCFPTSPV					
86	12	1340	QNETAGARL					
86	12	1340	QNETAGARLV					
86	12	1340	QNETAGARLV					
86	12	1803	QAPPSWDOM					
93	13	1535	QATVCARA					
79	11	1535	QATVCARAQA					
93	13	29	QVGGVYL	0.0015				
93	13	29	QVGGVYL					
86	12	338	QLURPOA	0.0002				
86	12	2184	QLPCEPEOV					
79	11	2210	QLSAFSLKA					
79	11	2210	QLSAFSLKAY					
86	12	1455	QVCFGLCT					
86	12	1229	QVHLHAPT					
86	12	1188	RAAVCTRGV					
79	11	1188	RAAVCTRGVA					
100	14	148	RALAHBVRV	0.0001				
100	14	148	RALAHBVRV					
86	12	2733	RASGVLTT					
79	11	43	RLGVRATKTK					

(表Ⅳの続き)

HCY A01 スパ-モター7 (結合情報を含む)

保存率	頻度	位置	配列	A'0201	A'0202	A'0203	A'0206	A'6802
79	11	2918	RUJLSAPSL					
79	11	2811	RLNFDL	0.0280	0.0055	0.0180	0.0002	0.0032
79	11	2811	RLNFDL					
78	11	1618	RLNFDL					
88	12	1029	RLNFDL	0.0880	0.0110	1.0000	0.0100	0.0050
86	12	1347	RLNFDL					
86	12	1347	RLNFDL					
100	14	818	RLNFDL					
86	12	317	RLNFDL					
83	13	535	RLNFDL					
88	12	2243	RLNFDL					
88	12	2243	RLNFDL					
86	12	2243	RLNFDL					
79	11	1284	RLNFDL					
79	11	1284	RLNFDL					
100	14	2821	RLNFDL					
86	12	2821	RLNFDL					
86	12	2252	RLNFDL					
86	12	2252	RLNFDL					
79	11	2100	RLNFDL	0.0001				
86	12	158	RLNFDL					
86	12	158	RLNFDL					
88	12	2833	RLNFDL					
79	11	1855	RLNFDL					
78	11	1655	RLNFDL					
78	11	2212	RLNFDL					
79	11	2212	RLNFDL					
93	13	2207	RLNFDL					
100	14	175	RLNFDL					
86	12	175	RLNFDL					
100	14	1470	RLNFDL					
88	12	1470	RLNFDL					
78	11	1470	RLNFDL					
79	11	2928	RLNFDL					
86	12	1651	RLNFDL					
100	14	2178	RLNFDL					
100	14	2178	RLNFDL					
100	14	2178	RLNFDL					
86	12	2183	RLNFDL					
93	13	2209	RLNFDL					
79	11	2209	RLNFDL					
78	11	2209	RLNFDL					

(表Ⅳの続き)

HCY A01 Z-バーコード-7 (結合情報を含む)

保存率	頻度	位置	並び列	A*0201	A*0202	A*0203	A*0206	A*0802
83	13	58	SOHGRROFI					
86	12	1242	STKVPAAYA					
79	11	1242	STKVPAAYA					
100	14	1784	STLPGNYA					
79	11	1784	STLPGNPA					
79	11	2	SINPKPCKT	0.0007				
88	12	1863	STWLVGGV					
88	12	1863	STWLVGGV					
86	12	1863	STWLVGGV					
88	12	1299	STYCKFLA					
100	14	1202	SVATLOFGA					
86	12	1455	SVCKNIEV					
86	12	1455	SVCKNIEV					
88	12	995	TAAGBON	0.0088				
85	12	1343	TAGARLVV					
88	12	1343	TAGARLVV					
88	12	1343	TAGARLVV					
78	11	1343	TAGARLVV					
78	11	2052	TAGARLVV					
79	11	2590	TAMKNEV					
93	13	1268	TLEFGAYM					
88	12	1268	TLEFGAYM					
79	11	1822	TLEFGAYM					
78	11	1822	TLEFGAYM					
88	12	1811	TLEFGAYM					
79	11	686	TLPALSTGL	0.0070				
79	11	686	TLPALSTGL					
79	11	1785	TLPALSTGL	0.0003				
79	11	1785	TLPALSTGL	0.0004				
86	12	125	TLPALSTGL					
88	12	125	TLPALSTGL	0.0003				
79	11	2871	TLWARMIL					
79	11	2871	TLWARMIL					
79	11	2871	TLWARMIL					
88	12	1209	TLWARMIL					
86	12	1404	TLWARMIL					
88	12	1404	TLWARMIL					
79	11	2589	TLWARMIL					
79	11	685	TLWARMIL					
79	11	685	TLWARMIL					
79	11	685	TLWARMIL					
79	11	685	TLWARMIL					
88	12	1208	TLWARMIL					
78	11	2739	TLWARMIL					

(表Ⅳの続き)

HCY A92 Z-パ-モ-7 (結合情報を含む)

保存率	頻度	位置	配列	A*0201	A*0202	A*0203	A*0206	A*9802
79	11	2739	TTSCGNLT					
79	11	1597	TVCARAOA					
86	12	1486	TVQSLDPT					
88	12	1486	TVQSLDPTFT					
100	14	1338	TVLDOAET					
100	14	1338	TVLDOAETA					
88	12	1238	TVLDOAETAGA					
100	14	1283	VAATLGFQAYM					
93	13	1283	VAATLGFQAYM					
88	12	1230	VALHAPT					
86	12	1440	VATDALMT					
86	12	1592	VAYQATVCA	0.0005				
79	11	1592	VAYQATVCA					
100	14	1420	VAYRGLDV	0.0001				
100	14	1420	VAYRGLDVSV					
86	12	1458	VDCNTCV					
85	12	1458	VDCNTCVT					
88	12	1458	VDCNTCVTGT					
88	12	122	VDCNTCVTGT					
88	12	1871	VNUTLQGFPA					
93	13	1521	VLAALAAAYCL					
79	11	1521	VLEEDYDA					
100	14	1337	VLEEDYDAGCA					
88	12	1337	VLDQAEIAGA					
86	12	157	VLDQAEIAGA					
88	12	157	VLEEDYNYAT					
100	14	1258	VLPFSVAA					
100	14	1258	VLPFSVAAT					
100	14	1258	VLPFSVAATL					
79	11	2737	VLITSCGNT	0.0015				
79	11	2737	VLITSCGNTL	0.0002				
79	11	1852	VLITSCGNTLT					
88	12	1852	VLYDLAGYGA					
88	12	1852	VLYGVLA					
88	12	1852	VLYGVLA					
86	12	1852	VLYGVLAAL					
86	12	1852	VLYGVLAALA					
100	14	1258	VLYGVLAALA					
100	14	1258	VLYGVLAALA					
100	14	1258	VLYGVLAALA					
100	14	1258	VLYGVLAALA					
100	14	1258	VLYGVLAALA					
100	14	1258	VLYGVLAALA					
79	11	2600	VQTEKGRGPA					

HCV AD2 スーパーモーター (結合情報を含む)

保存率	頻度	位置	品列	A*0301	A*0202	A*0203	A*0205	A*8802
100	14	1918	VQWAKRLI					
100	14	1918	VQWAKRLA					
100	14	1918	VQWAKRLAFA					
86	12	1483	VTOTVDFSL					
79	11	1138	VTRHADVI					
79	11	1138	VTRHADVTY					
86	12	1881	VTSTWVLV					
86	12	1881	VTSTWLVGGV					
79	11	1439	VWATDALM					
79	11	1438	VWATDALMT					
79	11	1901	WCAALIRHY					
79	11	1898	WGVWCAAL					
79	11	1898	WGVWCAAI					
79	11	1898	WGVWCAAL					
86	12	1880	WTSITWVL					
86	12	1880	WTSITWVLV					
86	12	1766	WAKHMVWFI					
86	12	75	WAGQYMWFL					
86	12	2873	WARMILMT					
79	11	2237	WAFOTXFFL					
100	14	1920	WAMHRLAFA					
79	11	557	WMNSTGFT					
86	12	1885	WMLVGGVL					
86	12	1885	WMLVGGVLA					
86	12	1885	WMLVGGVLAAL					
79	11	1248	YACGTGVV					
79	11	1248	YACGTGVVL					
79	11	1249	YACGTGVVLV					
79	11	136	YPLVGAFL					
100	14	1779	YLAGLSTL					
86	12	1185	YKGGSSGAPL					
86	12	1185	YKGGSSGAPL					
93	13	35	YLTFTCTVL					
79	11	2838	YLTFTPTT					
86	12	1580	YLYAYOAT					
86	12	1590	YLYAYOATV					
86	12	1590	YLYAYOATVCA					
86	12	1138	YLYTRHADY					
79	11	1138	YLYTRHADVI					
93	13	1594	YQATVCAFA					
				0.0003				
				0.0001				
				0.0410	0.0330	3.0000	0.0023	0.1000
				0.0005				
				0.0015				
				0.0050				
				0.0002				
				0.0400	0.0007	0.0220	0.0089	0.0039
				0.2500	0.1100	0.6300	0.0450	1.2000
				0.0110	0.0021	2.8000	0.0520	0.0130

(表Ⅳの続き)  
HCV A/D スーパーモーフ(結合情報を含む)

保存率	頻度	位置	配列	A*0201	A*0202	A*0203	A*0206	A*6002
79	11	1584	YQATVCARAQA					
79	11	1106	YINDDDL					
79	11	1106	YINDDDLV					
86	12	278	YWGDLGGV					
86	12	278	YWGDLGGSFL	0.0018				
93	13	637	YGGGMEFL	0.0008				
86	12	1938	YYPESDAA					
86	12	1938	YYPESDAAA					
86	12	1938	YYPESDAARV					
			555					

【0372】

【表10】



表 IX HCV A01 スーパーモーター (組合情報を含む)

表 IX

位置 配列

保存率 頻度

保存率	頻度	位置	配列	A*0301	A*1101	A*3101	A*3301	A*8801
86	12	647	ACHNTRGR	0.0983	0.0140	0.0450	0.0056	0.0018
78	11	147	AARDALGVIR					
78	11	1187	AVCTHGVAK					
78	11	2208	ASQLSAPSLK					
86	12	1285	ATLGFAYASK					
79	11	48	ATIKTSET					
79	11	1186	AVCTRGVAK	0.0260	0.0250	0.0011	0.0004	0.0001
95	12	2941	CLFGLGVYLR					
79	11	565	CTYMANSTGTR	0.7500	0.7500			
79	11	2587	CAQFBGGR	0.0008	0.0005			
79	11	2599	CAQFBGGR	0.0011	0.0008			
100	14	1574	DAHFLSOTK	0.0003	0.0005			
93	13	2517	DAGHGRCK	0.0003	0.0002	0.0008	0.0440	0.0002
79	11	1143	DVPTTGR					
88	12	2245	EACGNTR					
86	12	2598	EVQVQFEX	0.0000	0.0270	0.0083	0.0005	0.4609
100	14	728	FLUADAT					
78	11	148	GAARALAHGVIR					
100	14	1916	GAQVAMAR					
79	11	3037	GVLUPNR					
79	11	1004	GLPYGATH					
88	12	1131	GSSDLVTR					
88	12	1883	GVAGALVAFK					
79	11	9036	GVTGLUPNR	0.3900	1.4000	0.0055	0.0011	0.0080
79	11	45	GVRATEKTER	0.0014	0.0140	0.1600	0.0130	0.0007
79	11	1800	GVICANLR					
79	11	1800	GVICANLR					
93	13	33	GVLUPNR					
78	11	1141	GVLUPNR					
78	11	1141	HAQVPRR					
79	11	1141	HAQVPRR					
79	11	1141	HAQVPRR					
100	14	1234	HAPTGSGKTK					
83	13	1234	HAPTGSGKTK					
100	14	1572	HDMHFLSOTK					
86	12	1232	HJHAPTQSGK	0.5900	0.0024	0.0005	0.0005	0.0028
100	14	1395	HJFCHSK					
100	14	1395	HJFCHSK	0.0250	0.0006	0.0003	0.0004	0.0010
100	14	1395	HJFCHSK	0.0250	0.0002	0.0009	0.0005	0.0001
79	11	2020	HJFCHSK					
79	11	222	HJFCHSK					
79	11	222	HJFCHSK					
86	12	2250	HJFCHSK	0.0004	0.0012	0.0007	0.0006	0.0002
86	12	1285	HJFCHSK	0.0150	0.0070			
78	11	2019	HJFCHSK	0.0036	0.0044			
83	13	30	HJFCHSK	0.0008	0.0055			
83	13	30	HJFCHSK					
88	12	2844	HJFCHSK					
88	12	10	HJFCHSK					
88	12	10	HJFCHSK					
86	12	10	HJFCHSK					
93	13	51	HJFCHSK					
86	12	51	HJFCHSK					
86	12	51	HJFCHSK					
86	12	1728	HJFCHSK	0.0110	0.0100	0.2700	0.0160	0.0950
86	12	1728	HJFCHSK	0.1800	0.0640			

(表IXの続き)

ICVLAB スーパーエナジー (結合情報を含む)

保存率	頻度	位置	配列	A*0301	A*1101	A*3101	A*3301	A*0501
85	12	2338	LEALLWR	0.0008	0.0005	0.0019	0.0089	0.0009
100	14	1386	LFCHSR				0.0089	0.0009
100	14	1396	LFCHSR	0.5400	0.1800	0.0071	0.0012	0.0240
79	11	2612	LFPHGVR	0.0003	0.0001			
100	14	728	LFLLADAR					
93	13	38	LFPHSR					
86	12	87	LFPHSR					
79	11	1591	LYAQATYCAR					
79	11	1	MSINRFOR					
79	11	1	MSINRFOR	0.0010	0.0062			
88	12	2248	NURSEAK	0.0010	0.0007			
78	11	14	HNHPCDOK					
78	11	1285	PTISTICK					
79	11	2887	PAGEVDTR					
93	13	514	PSPVWGTDH					
78	11	1807	PSNDOMAK					
86	12	109	PTORTYR	0.0008	0.0005			
93	13	1238	PTGSHSTK	0.0002	0.0001	0.0008	0.0008	0.0002
83	13	618	PWVOTIDA	0.8808	0.0005			
88	12	1340	QAEIAGAR					
93	13	20	QWAGYLLPR					
86	12	289	CLTIESPR					
79	11	288	CLTIESPR	0.7500	0.0330	0.0280	0.0077	3.1000
78	11	2210	QLSAPSLK					
79	11	1188	RAVCTRGVAK					
100	14	149	RAJHGVH					
79	11	47	RATKISER					
78	11	43	RLCHRAIR					
78	11	43	RLCHRAIR	0.8400	0.0290	0.0420	0.0004	0.0001
100	14	1823	RLAPASIR					
79	11	2811	RLVTPOLVR					
100	14	935	RLVTPOLVR	0.7200	0.0200	0.1800	0.0030	0.0045
93	13	55	RSTOTOFF					
78	11	2207	RSTOTOFF					
88	12	1132	SASLSAPSLK	0.0003	0.0044			
79	11	2	SSLLVLYR					
79	11	2	STINRFOR					
79	11	2	STINRFOR					
88	12	1268	STINRFOR					
78	11	1622	TLEFGVNSK	0.0810	0.0510	0.0005	0.0019	0.0009
78	11	1622	TLEFGVNSK					
93	13	62	TLEFGVNSK					
86	12	52	TSEPCOFF	0.0003	0.0001			
86	12	52	TSEPCOFF					
86	12	52	TSEPCOFF					
86	12	1040	TSLTGROK					
86	12	1684	VAGLYARK					
70	11	1592	VAYQATYCAR	0.2409	0.8900	0.0048	0.0025	0.0310
86	12	1537	VLDOMETAGAR	0.0005	0.0035	0.0880	0.0720	0.0280
79	11	1138	VTHADYVPR					
78	11	1901	VYCAALIR					
78	11	1901	VYCAALIR					
79	11	1900	VWGVCAALIR					
93	13	517	VWGTOTON					

HCVA01Z-バ-モ-フ(総合情報を含む)

(表IXの続き)

保存率	頻度	位置	配列	A*0301	A*1101	A*3101	A*3301	A*4801
88	12	93	WAGWLSFR					
86	12	86	WLSPPGSR					
100	14	1920	WNNRIAFASR					
78	16	557	WNNSTGTR	0.0008	0.0005			
83	13	35	YLDPRGRR	0.0530	0.0010	0.0014	0.0420	0.0066
79	11	2930	YSPGERR	0.0054	0.0005			
100	14	637	YKGVRR					
88	12	1938	YVPEDAAV	0.0003	0.0001			
		112						

【0373】

【表11】

HCV A24 スパ-モーター(結合情報を含む)

香己列	位置	アミノ酸の数	配列頻度	保存率 (%)
ALISFGAL	1880	8	13	93
ALAHGVRVL	150	9	14	100
ALSTGLHL	689	9	12	86
ALVGVVCAAI	1896	11	11	79
ATGNLPQCSF	165	10	13	93
ATLGFAY	1265	6	14	153
ATLGFAYM	1288	9	12	93
AVAYFRL	1419	8	14	100
AVQWARRL	1917	8	14	100
AVQWARRLI	1917	9	14	100
AVQWARRLI	1917	11	14	100
AVQWARRLI	319	8	12	86
AYAGGTYRL	1246	10	11	86
AYVRLDVSI	1421	11	14	100
CLRLGVPL	2941	10	12	86
CLWVALLI	739	6	12	86
CTGSSSL	1128	8	11	79
CTGSSSLY	1128	9	11	79
CTGSSSLYL	1128	10	11	79
CTGTVAKAVDF	1180	11	11	78
CTVARRSTGF	555	9	11	79
CVTDTVDF	1462	8	12	86
CVTDTVDFSL	1462	10	12	86
CTAGCAW	1526	8	11	86
CTAGCAWY	1525	9	11	79
CTAGCAWYEL	1525	11	11	79
DFSLDPTF	1468	8	14	100
DFSLDPTFI	1468	10	14	100
DLGSSVL	279	8	12	88
DLEWTSTW	1657	9	12	86
DLEWTSTWVL	1657	11	12	86
DLGVRVCSRM	2617	10	13	86
DLMBYPL	132	8	11	93
DLVALLPAI	1893	9	11	79
DLVALLPAL	1893	10	11	79
DTAACGDI	994	8	12	86
DTAACGDI	994	9	12	86
DTAACGDI	994	10	12	86
DTAACGDI	994	11	12	86
DTAACGDI	994	12	12	86
DTAACGDI	994	13	12	86
DTAACGDI	994	14	12	86
DTAACGDI	994	15	12	86
DTAACGDI	994	16	12	86
DTAACGDI	994	17	12	86
DTAACGDI	994	18	12	86
DTAACGDI	994	19	12	86
DTAACGDI	994	20	12	86
DTAACGDI	994	21	12	86
DTAACGDI	994	22	12	86
DTAACGDI	994	23	12	86
DTAACGDI	994	24	12	86
DTAACGDI	994	25	12	86
DTAACGDI	994	26	12	86
DTAACGDI	994	27	12	86
DTAACGDI	994	28	12	86
DTAACGDI	994	29	12	86
DTAACGDI	994	30	12	86
DTAACGDI	994	31	12	86
DTAACGDI	994	32	12	86
DTAACGDI	994	33	12	86
DTAACGDI	994	34	12	86
DTAACGDI	994	35	12	86
DTAACGDI	994	36	12	86
DTAACGDI	994	37	12	86
DTAACGDI	994	38	12	86
DTAACGDI	994	39	12	86
DTAACGDI	994	40	12	86
DTAACGDI	994	41	12	86
DTAACGDI	994	42	12	86
DTAACGDI	994	43	12	86
DTAACGDI	994	44	12	86
DTAACGDI	994	45	12	86
DTAACGDI	994	46	12	86
DTAACGDI	994	47	12	86
DTAACGDI	994	48	12	86
DTAACGDI	994	49	12	86
DTAACGDI	994	50	12	86
DTAACGDI	994	51	12	86
DTAACGDI	994	52	12	86
DTAACGDI	994	53	12	86
DTAACGDI	994	54	12	86
DTAACGDI	994	55	12	86
DTAACGDI	994	56	12	86
DTAACGDI	994	57	12	86
DTAACGDI	994	58	12	86
DTAACGDI	994	59	12	86
DTAACGDI	994	60	12	86
DTAACGDI	994	61	12	86
DTAACGDI	994	62	12	86
DTAACGDI	994	63	12	86
DTAACGDI	994	64	12	86
DTAACGDI	994	65	12	86
DTAACGDI	994	66	12	86
DTAACGDI	994	67	12	86
DTAACGDI	994	68	12	86
DTAACGDI	994	69	12	86
DTAACGDI	994	70	12	86
DTAACGDI	994	71	12	86
DTAACGDI	994	72	12	86
DTAACGDI	994	73	12	86
DTAACGDI	994	74	12	86
DTAACGDI	994	75	12	86
DTAACGDI	994	76	12	86
DTAACGDI	994	77	12	86
DTAACGDI	994	78	12	86
DTAACGDI	994	79	12	86
DTAACGDI	994	80	12	86
DTAACGDI	994	81	12	86
DTAACGDI	994	82	12	86
DTAACGDI	994	83	12	86
DTAACGDI	994	84	12	86
DTAACGDI	994	85	12	86
DTAACGDI	994	86	12	86
DTAACGDI	994	87	12	86
DTAACGDI	994	88	12	86
DTAACGDI	994	89	12	86
DTAACGDI	994	90	12	86
DTAACGDI	994	91	12	86
DTAACGDI	994	92	12	86
DTAACGDI	994	93	12	86
DTAACGDI	994	94	12	86
DTAACGDI	994	95	12	86
DTAACGDI	994	96	12	86
DTAACGDI	994	97	12	86
DTAACGDI	994	98	12	86
DTAACGDI	994	99	12	86
DTAACGDI	994	100	12	86

(表Xの続き)

HCV A24 スターモナーフ (結合情報を含む)

並び列	位置	アミノ酸の数	配列頻度	保存率 (%)	A*2401
FSQDTLGL	1773	6	14	100	
FLALLSQL	1773	11	14	100	
FLAALSQL	1771	9	12	100	
FLAAMTRY	2792	8	14	88	
FTGLTHDAF	1557	11	13	100	
FTILPALTEL	884	11	11	93	
FWAGHMAF	1785	6	12	79	
FWAHMAAF	1765	10	12	86	8.9000
GFADLMGY	129	8	13	88	
GFADLMGY	129	9	13	93	
GFADLMGY	129	11	11	83	
GFADLMGY	129	11	11	79	
GFADLMGY	2869	8	11	79	
GFADLMGY	1776	8	14	100	
GFADLMGY	1776	11	14	100	
GLPACDHL	1552	9	13	93	
GLPACDHL	1552	11	12	88	
GLPACDHL	2821	10	11	79	0.0001
GLPACDHL	1782	11	11	79	
GLPACDHL	1568	9	13	93	
GLPACDHL	1568	10	12	93	
GLPACDHL	2083	8	11	79	
GLPACDHL	1853	9	12	88	
GLPACDHL	1193	8	11	79	
GLPACDHL	1870	8	12	88	
GLPACDHL	1870	11	12	88	
GLPACDHL	161	9	11	88	
GLPACDHL	2618	9	11	79	
GLPACDHL	2618	10	14	100	
GLPACDHL	2618	11	14	100	
GLPACDHL	154	11	12	100	
GLPACDHL	1800	8	11	88	
GLPACDHL	1827	8	11	79	
GLPACDHL	1827	11	11	79	
GLPACDHL	1859	10	12	79	
GLPACDHL	135	10	11	88	
GLPACDHL	2726	11	12	79	0.0003
GLPACDHL	696	11	11	88	0.0057
GLPACDHL	1719	9	11	88	
GLPACDHL	1769	9	13	79	
GLPACDHL	1769	11	13	93	
GLPACDHL	2855	8	12	88	
GLPACDHL	2855	11	12	88	
GLPACDHL	1910	11	11	79	
GLPACDHL	176	10	12	88	
GLPACDHL	1816	10	12	88	0.0028

(表Xの続き)

HCV A24 スーパーモチーフ (結合情報を含む)

配列	位置	アミノ酸の数	配列頻度	保存率 (%)	A*2401
ELGDTN	1331	8	12	86	
MANNEVF	2591	8	12	86	
ITYSTYQGF	1296	9	12	86	
ITYSTYQRL	1298	10	11	79	
NQWQVLY	701	8	12	86	
NEGIVLL	30	8	19	83	
NGFGGCI	23	8	13	93	
KVIDLTQGF	121	10	12	86	
LRNLGGW	1813	8	12	86	
LEANLLW	2235	8	12	86	
LIVNGSW	414	8	11	86	
LLALISCL	176	8	12	79	
LLAPTAY	1030	8	14	86	
LRNLGGW	1812	8	12	86	
LLPALSPGAL	1887	11	13	86	
LPTRGPHL	36	9	13	93	
LLSPGSPESW	97	11	13	83	
LIWTEGNGN	2240	11	11	79	
LITGFADL	126	8	12	86	
LITGFADLM	126	9	12	86	
LITGFADLAGY	126	11	12	86	
LITHDHP	1570	8	13	86	
LITHDHPFL	1570	8	13	83	
LTSMLTUPSH	2178	11	13	83	
LTISQNTIL	2738	8	11	83	
LVMLAGY	1853	8	11	79	
LVGGVLAAL	1557	9	12	86	
LVNPSVAATL	1257	11	14	100	
LVNLPAL	1884	8	11	79	
LVNLPAL	1884	9	11	79	
LVTRHADW	1137	10	11	79	
LVGGVYCAAL	1897	11	11	79	
LVGGVYCAAL	1897	11	11	79	
LWARMLLM	2872	8	12	86	
LWARMLLMITF	2872	11	12	86	
LWRCEAGSH	2241	10	12	86	
LYLITRHADW	1135	11	11	79	
MLMTHFF	2076	8	12	86	
MLTDPSSH	2179	8	14	100	
MANFSGI	1770	8	14	100	
MANFESQY	1770	10	14	100	
MANFESQYL	1770	11	14	100	
MYNGVEHFL	535	10	13	100	
NFESQY	1772	8	14	93	0.0270
NFESQYL	1772	9	14	100	0.0170

HCV A24 スーパーモーター (結合情報を含む)

位置	アミ酸の數	配列頻度 (%)	保存率 (%)
ALANINE	1816	11	86
ASPARTIC ACID	1282	8	79
GLUTAMIC ACID	700	8	88
GLUTAMINE	700	9	85
GLYCINE	118	3	85
ISOLEUCINE	2330	8	86
LEUCINE	168	8	93
LISINE	189	10	93
MALIC ACID	168	11	93
METHIONINE	1460	10	86
NITROGEN	416	8	92
PROLINE	14	11	79
PROPYL	1108	9	79
PROPYL	351	8	86
PROPYL	1295	10	79
PROPYL	1295	11	79
PROPYL	2403	11	93
PROPYL	143	9	79
PROPYL	2667	11	79
PROPYL	108	11	79
PROPYL	1623	11	86
PROPYL	1821	10	78
PROPYL	1621	11	79
PROPYL	2870	8	79
PROPYL	2870	9	79
PROPYL	2870	10	79
PROPYL	1826	8	100
PROPYL	1554	9	88
PROPYL	1564	10	88
PROPYL	2867	9	88
PROPYL	2857	10	100
PROPYL	2857	11	100
PROPYL	2316	8	86
PROPYL	1732	9	79
PROPYL	1732	10	86
PROPYL	29	8	86
PROPYL	29	9	93
PROPYL	1465	11	93
PROPYL	1819	9	86
PROPYL	1778	9	100
PROPYL	2847	10	100
PROPYL	2847	11	78
PROPYL	2918	8	78
PROPYL	2918	10	86
PROPYL	2811	9	79
PROPYL	2811	11	79

HCV A24 スーパーモーター (結合情報も含む)

配列	位置	ペナチド番号	7-ミ酸の数	配列頻度	保存率
RLAPITAY	1029		9	12	86
RLAWDAMDA	317		8	12	86
RLAWDAMWAW	317		10	12	86
RLBLITIE	2875		8	12	86
RLMDITFF	2875		9	12	86
RLMYGVGBFL	835		11	13	86
RLVCXUAL	2621		8	14	87
RLVCBNALY	2821		9	14	100
RLVEXGMY	156		9	12	100
RLFSRLAL	173		9	14	88
RLFSRLAL	173		10	14	100
RLFLAL	175		8	14	190
RLFLALBOL	175		11	14	100
RLGPTIT	1470		8	12	86
RLHSYSGE	2928		10	14	100
RLHIDPSH	2178		8	11	79
RLKVPAY	1242		8	14	100
RLKVPAY	1242		9	12	86
RLKVPAY	1242		9	11	79
RLKVPAY	1242		10	12	86
RLKVPAY	1242		11	14	100
RLKVPAY	1242		11	14	86
RLKVPAY	1242		11	11	300
RLKVPAY	1242		8	12	86
RLKVPAY	1242		11	12	86
RLKVPAY	1242		11	12	86
RLKVPAY	1242		11	12	86
RLKVPAY	1242		11	12	86
RLKVPAY	1242		11	12	86
RLKVPAY	1242		11	12	86
RLKVPAY	1242		11	12	86
RLKVPAY	1242		11	12	86
RLKVPAY	1242		11	12	86
RLKVPAY	1242		11	12	86
RLKVPAY	1242		11	12	86
RLKVPAY	1242		11	12	86
RLKVPAY	1242		11	12	86
RLKVPAY	1242		11	12	86
RLKVPAY	1242		11	12	86
RLKVPAY	1242		11	12	86
RLKVPAY	1242		11	12	86
RLKVPAY	1242		11	12	86
RLKVPAY	1242		11	12	86
RLKVPAY	1242		11	12	86
RLKVPAY	1242		11	12	86
RLKVPAY	1242		11	12	86
RLKVPAY	1242		11	12	86
RLKVPAY	1242		11	12	86
RLKVPAY	1242		11	12	86
RLKVPAY	1242		11	12	86
RLKVPAY	1242		11	12	86
RLKVPAY	1242		11	12	86
RLKVPAY	1242		11	12	86
RLKVPAY	1242		11	12	86
RLKVPAY	1242		11	12	86
RLKVPAY	1242		11	12	86
RLKVPAY	1242		11	12	86
RLKVPAY	1242		11	12	86
RLKVPAY	1242		11	12	86
RLKVPAY	1242		11	12	86
RLKVPAY	1242		11	12	86
RLKVPAY	1242		11	12	86
RLKVPAY	1242		11	12	86
RLKVPAY	1242		11	12	86
RLKVPAY	1242		11	12	86
RLKVPAY	1242		11	12	86
RLKVPAY	1242		11	12	86
RLKVPAY	1242		11	12	86
RLKVPAY	1242		11	12	86
RLKVPAY	1242		11	12	86
RLKVPAY	1242		11	12	86
RLKVPAY	1242		11	12	86
RLKVPAY	1242		11	12	86
RLKVPAY	1242		11	12	86
RLKVPAY	1242		11	12	86
RLKVPAY	1242		11	12	86
RLKVPAY	1242		11	12	86
RLKVPAY	1242		11	12	86
RLKVPAY	1242		11	12	86
RLKVPAY	1242		11	12	86
RLKVPAY	1242		11	12	86
RLKVPAY	1242		11	12	86
RLKVPAY	1242		11	12	86
RLKVPAY	1242		11	12	86
RLKVPAY	1242		11	12	86
RLKVPAY	1242		11	12	86
RLKVPAY	1242		11	12	86
RLKVPAY	1242		11	12	86
RLKVPAY	1242		11	12	86
RLKVPAY	1242		11	12	86
RLKVPAY	1242		11	12	86
RLKVPAY	1242		11	12	86
RLKVPAY	1242		11	12	86
RLKVPAY	1242		11	12	86
RLKVPAY	1242		11	12	86
RLKVPAY	1242		11	12	86
RLKVPAY	1242		11	12	86
RLKVPAY	1242		11	12	86
RLKVPAY	1242		11	12	86
RLKVPAY	1242		11	12	86
RLKVPAY	1242		11	12	86
RLKVPAY	1242		11	12	86
RLKVPAY	1242		11	12	86
RLKVPAY	1242		11	12	86
RLKVPAY	1242		11	12	86
RLKVPAY	1242		11	12	86
RLKVPAY	1242		11	12	86
RLKVPAY	1242		11	12	86
RLKVPAY	1242		11	12	86
RLKVPAY	1242		11	12	86
RLKVPAY	1242		11	12	86
RLKVPAY	1242		11	12	86
RLKVPAY	1242		11	12	86
RLKVPAY	1242		11	12	86
RLKVPAY	1242		11	12	86
RLKVPAY	1242		11	12	86
RLKVPAY	1242		11	12	86
RLKVPAY	1242		11	12	86
RLKVPAY	1242		11	12	86
RLKVPAY	1242		11	12	86
RLKVPAY	1242		11	12	86
RLKVPAY	1242		11	12	86
RLKVPAY	1242		11	12	86
RLKVPAY	1242		11	12	86
RLKVPAY	1242		11	12	86
RLKVPAY	1242		11	12	86
RLKVPAY	1242		11	12	86
RLKVPAY	1242		11	12	86
RLKVPAY	1242		11	12	86
RLKVPAY	1242		11	12	86
RLKVPAY	1242		11	12	86
RLKVPAY	1242		11	12	86
RLKVPAY	1242		11	12	86
RLKVPAY	1242		11	12	86
RLKVPAY	1242		11	12	86
RLKVPAY	1242		11	12	86
RLKVPAY	1242		11	12	86
RLKVPAY	1242		11	12	86
RLKVPAY	1242		11	12	86
RLKVPAY	1242		11	12	86
RLKVPAY	1242		11	12	86
RLKVPAY	1242		11	12	86
RLKVPAY	1242		11	12	86
RLKVPAY	1242		11	12	86
RLKVPAY	1242		11	12	86
RLKVPAY	1242		11	12	86
RLKVPAY	1242		11	12	86
RLKVPAY	1242		11	12	86
RLKVPAY	1242		11	12	86
RLKVPAY	1242		11	12	86
RLKVPAY	1242		11	12	86
RLKVPAY	1242		11	12	86
RLKVPAY	1242				



(表Xの続き)

HCV A24 スーパ-モチーフ(結合情報を含む)

【0374】

【表12】

配列	位置	アミノ酸の数	自己相度	保存率 (%)	A*2401
TYSTYGRF	1297	8	13	93	
TYSTYGRF	1297	9	12	86	0.0230
VFGLTH	1555	8	13	93	
VDILTQGF	122	9	12	86	
VLALAAAY	1871	8	12	86	
VLALAAVCL	1571	10	12	86	0.0070
VLEDGNY	157	8	12	86	
VLPNVAATL	1258	10	14	100	
VLITSCNTL	2737	10	11	79	
VLVDLAGY	1552	9	11	78	
VLGGVLAAL	1555	10	12	86	
VMSSTYGF	2838	0	11	79	
VMSSTYGFQY	2838	10	11	79	
VTQVDFSL	1463	9	12	86	
VTRHADVI	1138	0	11	78	
WATDALM	1439	9	11	78	
WGYWCAN	1898	8	11	78	
WGWCAAL	1898	10	11	78	
WTSIHWL	1660	8	12	79	
WTLPTKQPL	34	11	13	86	0.0018
WNNRLAF	1920	8	14	83	
WALVGM	1555	8	12	100	
WLVGVLAAL	1555	11	12	86	
WPLVGAFL	136	9	11	86	
WLAGLTL	1779	8	14	79	
WLGSSGQFL	1165	10	12	100	
WLGSSGQFL	1165	11	12	86	
WLVTRHADVI	35	10	13	93	0.0001
WLVTRHADVI	1138	10	11	79	
WLVTRHADVI	1105	8	11	79	
WLVTRHADVI	1105	11	11	79	
WLVTRHADVI	276	10	12	86	
WLVTRHADVI	276	11	12	86	
WLVTRHADVI	837	9	13	93	
WLVTRHADVI	1422	10	14	100	
WLVTRHADVI	250	3			

保存率 1 頻度

[illegible]

(表XIの続き)

HCY B01 スーパーモーター7 (結合情報を含む)

保存率	頻度	位置	配列	B*0702	B*3501	B*5101	B*5301	B*5401
86	12	76	CGGVVWVLY	0.0001	0.0011	0.0002	0.0001	0.0002
83	13	57	CPVGVVWVLY	0.2300	0.0002	0.0001	0.0001	0.0002
78	11	2298	NPVGVVWVLY	0.0050				
93	13	1853	SPGALVWGV	0.0001	0.0002	0.0002	0.1200	0.0002
79	11	1853	SPGALVWGV	0.0130	0.0001	0.0016	0.0001	0.0003
79	11	2831	SPGVWV	0.0007				
78	11	2831	SPGVWV	0.0003	0.0001	0.0001	0.0002	0.0037
79	11	2649	SPGVWV	0.0027				
79	11	2649	SPGVWV	0.1200	0.0002	0.0002	0.0001	0.0002
79	11	2649	SPGVWV	0.3800	0.0002	0.0003	0.0001	0.0002
86	12	98	SPGVWV	0.0001				
86	12	1935	SPGVWV	0.0028	0.0001	0.0002	0.0001	0.0003
86	12	1975	TPCQSSDL	0.0001				
79	11	1128	TPCQSSDL	0.0001				
79	11	1128	TPCQSSDL	0.0001				
86	12	223	TPGVWV	0.0001				
93	13	1550	TPGVWV	0.0001				
83	13	1827	TPGVWV	0.0001				
93	13	1827	TPGVWV	0.0001				
86	12	2658	TPVNSWLV	0.0120	0.0001	0.0008	0.0002	0.2300
86	12	2658	TPVNSWLV	0.0001	0.0001	0.0008	0.0001	0.0110
86	12	1540	VPESDAV	0.0001				0.0003
88	12	1940	VPESDAV	0.0022				
86	12	789	WPLVWV	0.0001	0.0001	0.0010	0.0001	0.0003
100	14	816	WPLVWV	0.0021				

【0375】

【表13】

表 XII HCV B27 スーパ-モナ-7

自己列	位置	アミノ酸の数	配列頻度	保存率 (%)
AKHAWNEI	1767	1	12	86
AKNEVCV	2583	1	12	86
AKALANGV	148	1	14	100
DRELSPL	583	1	11	79
EKGGEPA	2803	1	11	78
EKAALYGV	2824	2	12	86
PKKALGL	1733	2	12	86
GPRHAWOL	318	2	13	92
GKSTINPA	1240	2	12	86
GRPARUJ	2808	2	12	86
PRMAWMM	316	2	11	78
KGERHLI	1380	2	13	93
KIGVRII	1283	2	11	79
KKCEJAA	1403	2	11	78
KKCEJLA	1402	2	14	100
UKSTPLL	1823	2	14	100
UHKNDV	697	2	11	79
LRIALAV	869	2	12	86
NKSPRIY	1932	2	11	78
PRORPPI	58	2	12	86
PRSRPSW	160	2	13	88
PRYERPL	112	2	11	82
PRADMPV	1140	2	12	79
RHIPPMSW	2854	2	11	86
RKLGVPPL	2842	2	12	86
RKPARLV	2807	2	12	86
RKCRASGV	2730	2	11	78
PRGRPLV	38	2	13	83
PRGQINF	17	2	13	83
SKOCCDEL	1401	2	12	86
SRNLGKI	138	2	14	100
TRDAVPL	1571	2	12	86
TKKLTPH	2885	2	13	83
TRUPATA	1243	2	12	86
TRCTISTV	2874	2	12	86
TRGVAKAV	1181	2	14	85
VRYCEKMA	2820	2	11	100
VRYLEGV	155	2	11	79
YRGLDSY	1423	2	14	100
ARHIVNSW	2853	2	13	93
ARLVFPPL	2810	2	14	100
ARLVWLATA	1348	2	11	79
ARLMLTHF	2874	2	11	78
ARPDNPPL	2876	2	12	79
DRELSPL	663	2	11	86
		2	11	79

(表XIIの続き)

HCV H77 ス-パ-モチ-7

配列	位置	ペプチド番号	アミノ酸の数	配列頻度	保存率 [%]
EXMALYDWN	2674		9	12	86
FKKALGL	1733		9	12	86
GRMAWDMA	315		8	12	93
GKSTKVPAA	1240		9	12	86
GRKPARLV	2808		9	11	79
HRMAWDMA	316		9	12	86
KGGRLEF	1390		8	11	79
KKQDELA	1482		9	14	100
UNGSLFSL	2819		9	11	79
LIHSPTPLY	1823		9	11	79
LIHSVQGE	2827		9	11	79
LKSSSGRL	1186		9	12	86
LRLGNPPL	2842		9	12	86
NIYSPTHTV	1932		9	12	86
NPRGQVNF	18		8	11	79
PRRGPLGV	58		8	11	79
RHTPNSWL	2854		9	13	93
RHMGTGGA	1808		9	12	86
RKPATLNF	2887		9	11	79
RRCRASGL	2750		9	11	79
RRENLRGV	114		9	12	86
SKQDELA	1401		9	12	86
THVVFESDA	1837		9	14	100
TKVPAAYAA	1843		9	12	86
TRHADVPV	1139		9	11	79
TRVESNV	2251		9	11	79
WTFSGSQ	22		9	12	86
WRVCEMAL	2620		9	13	93
WRLLPITA	1028		9	14	100
WRDEAGGN	2242		9	11	79
YRGDWSM	1423		9	12	86
YRGRASGV	2729		9	14	100
ARLAHGTRV	148		10	13	93
ARQAQPFPSW	1800		10	14	100
ARHTPNSWL	2859		10	11	79
ARMLMTIFF	2874		10	11	79
CHSKKQDEL	1399		10	12	86
DHDSLSPL	861		10	14	100
CRSLSPL	863		10	11	79
EGGRPAFL	2803		10	11	79
FRAAVCTRGV	1185		10	11	79
GRMAWDMA	316		10	12	86
GKSTKVPAA	1240		10	12	86
GRKPARLV	2808		10	11	79
KHAMWFSS	1761		10	13	93

(表XIIの続き)

HCY-DZ2 S-P-E-M-F-7

配列	位置	アミノ酸の数	画列頻度	保存率 (%)
KKDELAAL	1403	10	12	86
LQNVVQDY	897	10	12	79
LKSSSGRL	1168	10	12	86
OKALGILTA	1235	10	12	86
FIHQPGGAV	1909	10	11	79
RIQPIELVIA	39	10	13	93
PRHAGTGEA	1908	10	11	79
RRSRNLGV	113	10	12	86
RRSRNLGV	114	10	12	86
SKFGYGAQV	2652	10	12	86
SKKKQDLAA	1461	10	12	86
THVYFESDA	1837	10	14	100
TRVAKANDF	1191	10	12	86
TRVSENAW	2261	10	11	79
VQFRGGQIV	93	10	12	86
VIVCEKUALY	2828	10	13	93
VRLEGGAV	165	10	14	100
WRLLAPITAY	1628	10	12	86
YKMLNPSV	1254	10	11	79
YPRCLASGL	2728	10	14	100
ALGSRLEGGV	152	11	12	86
ASGLMNPISG	1767	11	13	93
ARALHGVIVL	149	11	12	86
ARLVFFDLGV	2610	11	14	100
QISQKQDLA	1399	11	11	79
DRQSESLP	611	11	14	100
EXGGKPAQL	2603	11	11	79
FRANCTIRGA	1185	11	11	79
GKSTKVPAAVA	1240	11	11	79
GRVDLTCSF	120	11	12	86
HRMAYQNMAMW	318	11	12	86
KKKQDLAAL	1402	11	12	86
KRTNRFQDV	12	11	12	86
LKPTILYPL	1823	11	12	86
LQNVVQDY	897	11	11	79
LKPTILHPTPL	1819	11	11	79
LRFHAGTGEA	1807	11	11	79
PRKQPIQVRA	38	11	11	79
PRSRNLGV	112	11	13	93
PRHAGTGEA	1908	11	12	86
RRSRNLGV	113	11	11	79
RRSRNLGV	1829	11	12	86
SRGLMNPISG	118	11	12	86
SRVGLQVDTL	1837	11	12	86
THVYFESDA	135	11	12	86
VRLEGGAV		11	12	86

【0376】  
【表14】

(表XIIの続き)				
HCYD27ス-1 <sup>o</sup> -モチ-7				
酉己列	位置	アミノ酸の数	酉己列頻度	保存率 (%)
YKVLVLPFSA 136	1254	11	14	100

HCV B5B スピードモーター

表 XIII

品名	位置	デノ図の数	配列頻度	保存率 (%)
AAERHHV	1804	1	13	93
AAALAYCL	1673	1	12	88
AAQETWGL	1250	1	11	79
AAIIGFQA	1264	1	11	100
AAVCTHGV	1187	1	11	88
ASLMAFTA	1793	1	12	79
ASSASQIL	2206	1	11	100
ATLEFGAY	1288	1	14	100
CSFSEILL	1772	1	14	100
CSGQATDI	1310	1	12	88
CSNNNSVA	2819	1	14	100
CTGSSSEL	1128	1	11	79
CTRGVAKA	1180	1	11	79
DTAACGDN	984	1	12	88
DTLTCSEA	124	1	12	98
EALLENLV	750	1	11	79
EAMTRYSA	2784	1	11	100
ESDAAARV	1942	1	14	86
ETAGARLV	1942	1	12	86
ETTHREPV	1207	1	12	88
FADLAKYI	130	1	13	93
FASRGNAV	1927	1	14	100
FSIELLAL	174	1	14	100
FSYDTRCF	2670	1	11	78
FTEAMTRY	2792	1	14	100
FTSPFVVV	512	1	13	93
GAQVAGAL	1881	1	13	86
QAHWGVLA	350	1	12	86
GALWGVV	1885	1	11	79
GARLVVLA	1345	1	12	68
GSGGSTRV	1238	1	12	83
GSSDLTLV	1131	1	13	86
GSSGDFLL	1188	1	12	88
GSSNGFQV	2841	1	12	88
GTERINAY	2803	1	11	79
HSYSPGEB	2828	1	11	79
HITPMSWL	2858	1	11	79
ISQIOYLA	1774	1	12	85
ITSQSSHW	2818	1	14	100
ITWQADTA	989	1	14	100
KSTKNVFA	1241	1	12	85
LADYGAGV	1827	1	12	86
LAKQRYCL	151	1	11	79
LAVNEFV	972	1	14	100
LSAPFLKA	2211	1	11	78



(表XIIIの続き)

HCV B58 スーパーセー7

配列	位置	アミノ酸の数	配列頻度	保存率 (%)
LSPGALW	1492	0	13	93
LSTGEAL	590	0	12	88
LTCGFADL	126	2	12	86
LTHDANF	1570	3	15	83
MSAQLEW	1654	2	11	79
NSWLGNL	2858	2	14	100
NTDVTGV	1460	2	8	88
NTGSHH	416	0	12	93
PARSPGA	1889	3	13	93
PALSTGLI	688	0	13	86
PTLWARM	2870	0	12	78
PTRLYRL	1626	0	11	100
QATVCARA	1595	0	14	93
RARRPRFM	3019	2	14	100
RSELSTLL	564	0	11	79
RFRNLGV	115	2	12	86
SAPSLHSY	2823	2	12	86
SSASQLSA	2208	0	14	100
STKVPAAV	1242	0	12	86
STLPSNFA	1784	0	14	100
STLPOAMH	2633	0	12	86
STYGRCLA	1299	0	12	86
TACGSRI	995	0	12	86
TAGARLVV	1343	0	12	86
TTMRSPVF	1208	0	12	86
TTCGNTIL	2738	0	11	79
VAGALVAF	1864	0	12	88
VTRHLDVI	1138	0	11	79
VSTWLV	1681	0	12	86
WAGMAMNF	1755	0	12	86
WAKVLIVM	368	0	14	100
WACPGPVM	76	0	12	86
YACGTVV	1248	0	12	86
YSEFLD	2805	0	11	78
YSTYGRFL	1298	0	12	86
YTNXDDL	1108	0	11	79
ANGLDDGTM	2738	0	18	114
AKGTYKLV	1230	0	11	79
ANBALAHGV	147	0	11	79
AATLGGAY	1284	0	14	100
ANVCTRGA	1187	0	11	79
ASQLSAPL	2208	0	12	83
ATLGFQYM	1285	0	26	186
ATVCARADA	1595	0	11	79
CAALLRNV	1903	0	12	93

(表2)の続き)

HCV B58 スパチー7

配列	位置	アミノ酸の数	配列頻度	保存率 (%)
CAWYELIPA	1530	8	11	78
CSFSRLA	172	8	14	100
CSGGAYDI	1310	9	12	88
CIOSSSLY	1128	8	11	79
CITRGVAKAV	1190	8	11	78
CTWANNSTGF	558	5	11	78
DAGCANYEL	1527	9	11	78
DIAAGGDII	996	8	12	86
DITRCFSTV	2873	8	13	83
ETAGARLW	1342	8	12	88
ETIMTSPVF	1207	9	12	88
FSRLALL	174	8	14	100
FSLDPTFI	1469	9	14	100
FTGLTHDA	1567	9	13	93
GAGVAGALV	1861	9	12	88
GALVAFKIM	1856	8	12	86
GALVAFKVA	1868	8	14	100
GAYVWAMEL	1816	8	14	100
HSKKKDEL	1400	9	11	78
HTRCVRGV	222	9	12	88
ITWGADTAA	939	8	12	88
ITYSITGKF	1236	9	12	88
KALGLLOTA	1736	8	12	88
KSTRVPAAY	1241	8	12	88
LAALAAYCL	1672	9	12	88
LAEDFKKA	1729	8	12	88
LAGLAYYSN	756	9	12	88
LADYGAGVA	1857	8	14	100
LSAFSLISY	2932	8	11	79
LSTLPGNPA	1783	8	11	79
LTCGFALIL	126	8	14	100
LTDPSHITA	2180	8	24	171
LTSRKNQV	1052	9	14	100
LTHDAHL	1570	8	12	88
LITSCENTL	2738	8	13	93
MARREVFQV	2592	8	11	78
MAWDMIMMAY	318	8	12	88
NAVATYROL	1418	8	12	88
NSLRHNM	2481	8	13	93
NSHLGNBI	2858	8	14	100
NINFPQDV	14	9	24	171
PALSPQAL	1889	8	12	86
PSVAATLGF	1281	8	13	93
PTLHSPTEL	1621	8	14	100
PTLWARMIL	2870	9	11	79

(表頭の続き)

UCV B58 Z-ポーチ-7

配列	位置	アミノ酸の数	配列頻度	保存率 (%)
QAETADRL	1340	9	12	86
RAVCTRGV	1186	9	12	86
RAIAHQVRY	148	9	14	100
RAQAPPSW	1601	9	11	79
RAYADREH	811	9	18	114
RSELSPILL	884	2	11	79
RSPALGKM	115	9	12	86
SSSASQLSA	2205	9	14	100
STKVPAAYA	1242	9	12	86
STLPQNFH	1784	9	11	79
STWVLGGV	1663	8	12	86
TAGARLVYL	1343	9	12	86
TSCSNVSV	2817	9	14	100
TIIMAKNEV	2599	9	11	79
VIATLGECA	1263	9	11	100
VAGRTNCA	931	9	14	100
VAYQATYCA	1592	8	14	100
VAYYRGLOV	1420	9	12	86
VSTLPDAVN	2632	9	14	100
VTOTVDFSL	1483	9	12	86
WAKRAMWFI	1758	8	12	86
YAAGGYKVL	1249	9	11	79
YAPTLWARM	2868	9	11	100
YSPGENTRV	2930	8	14	100
YSTYGHFLA	1238	8	11	79
YTMDCOLV	1106	9	12	86
YAGGYKVL	1250	9	11	79
YATLGEQVH	1254	10	11	79
YSLVFTEAM	2787	10	28	186
ASSASQSLSA	2284	10	12	86
ATGNLPSCSF	165	10	14	100
CSFSLFLAL	172	10	13	93
CTCGSSQLYL	1126	10	14	100
DARVCAQVNM	753	10	11	79
DSWQNTICY	1454	10	18	129
DILTCGFAOL	124	10	12	86
EANLIWFOBA	2237	10	12	86
ETAGARLVWL	1348	10	24	171
FADLQGYPL	130	10	12	88
FTEANTRYSA	2792	10	11	79
GAARALAHGV	146	10	14	100
GAOTJACGV	892	10	11	79
GAIVAGALYA	1681	10	12	86
GALVNGWCA	1885	10	12	86
		10	11	79

(表Ⅷの続き)

HCV B58 Z-6-Eチ-7

並び列	位置	アミノ酸の数	配列頻度	保存率 (%)
GARLVVLATA	1345	10	11	79
GAQVWNNFLI	1918	10	14	100
GSCKSTNPFA	1238	10	12	88
GVLDCAETA	1335	10	14	100
HSKKODEJA	1400	10	14	100
IAFASRGNHV	1925	10	14	100
ESGOTLAGL	1774	10	14	100
ITRVESENKV	2260	10	12	88
ITSQSSNWSV	2818	10	14	100
ITYETVCKEL	1296	10	11	79
KSTKVPAAAYA	1241	10	12	88
LAQGGCSGGA	1305	10	11	79
LAEDPRCKAL	1728	10	12	88
LALPPRAYAM	896	10	12	88
LSPQALWQV	1892	10	12	88
LSPRGERSNV	44	10	11	79
LSBAPRFRFM	3017	10	14	100
LSTLQGNPAJ	1783	10	13	79
LHPPTKTM	1842	10	16	114
NICVITVDF	1480	10	12	88
PALSPGALV	1889	10	12	88
PALSTGLAH	888	10	12	88
PARLVNFRPL	2604	10	11	78
PRHCDMMKCL	1667	10	11	78
PTGSGRSIKV	1238	10	13	83
PTHYWFESDA	1938	10	12	88
PTLHGPTPL	1821	10	11	79
PTLWARMILM	2878	10	22	157
PTRLVRLCA	1624	10	13	93
QAEIAGARLV	1340	10	12	88
QAPFSWCDM	1803	10	24	171
QATVCARADA	1585	10	11	78
RAAKLOECTA	2757	10	16	114
RAAVCTIRGA	1186	10	11	79
RAIAHGVVRL	148	10	11	79
SASQLAPRL	2207	10	14	100
STRVPAAYAA	1242	10	13	93
STWLVGGWL	1683	10	11	79
TAGARLVULA	1343	10	12	88
TARHTPNNSW	2852	10	12	88
TGCSNNSVA	2817	10	11	79
TSMLTQPSH	2177	10	14	100
TSWLVGGGV	1582	10	13	93
TTIMAKNEVF	2509	10	12	88
TLPALSTGL	486	10	11	79

(表Ⅳの続き)

HCY B58 スパチー7

並び列	位置	アミノ酸の数	蓄列頻度	保存率 (%)
VAATLGFQAY	1283	10	14	100
VIRGERPSSA	1507	10	16	114
VIRHADVPV	1138	10	11	79
WADGYPAPL	75	10	12	55
WAWMLNTHF	2873	10	12	85
WAFDTNPTL	2297	10	11	79
YAAQGYKLY	1249	10	11	79
YSPENRRA	2930	10	11	79
YSPGGRREL	2548	10	11	79
YSPGGRREL	147	11	11	79
YARALAHGVN	2786	11	12	88
YASLRVFTAM	1137	11	11	79
YAVCTRGVAKA	1717	11	14	100
ASHLPYECGL	2208	11	11	79
ASQLSAPFLKA	1999	11	11	79
CARAQAPFSSW	1172	11	11	100
CSESRLALL	1128	11	14	100
CTGSSSLILV	1180	11	11	79
CTRGVAKADIF	733	11	11	79
DARVCALNMM	124	11	15	114
DILTCCGACIL	1342	11	24	171
ETAGARLVLA	130	11	12	86
FADLNGVRLV	2925	11	11	79
FSLHSYSRGE	1587	11	11	79
FTGLTHQHF	884	11	13	93
FTLPALSTGL	982	11	11	79
GNDTAACGM	1861	11	12	85
GAGVAGALVAF	1895	11	12	85
GALVGVWCA	1816	11	11	79
GAVQWNRLLA	1258	11	14	100
GSGKSTRPAA	1400	11	12	86
HSKKGKDELAA	2928	11	14	100
HSTSPGSRV	2853	11	11	79
HTPVRSWLN	2260	11	12	86
ITRVSEKVV	2515	11	12	85
ITSCSSNNSVA	1288	11	14	100
ITVETVGRFLA	1247	11	11	79
KSTRVPAATAA	1305	11	11	79
LADGSSGGAY	1857	11	11	79
LAGTGAQVAGA	2478	11	11	78
LNSLLRHNNM	1882	11	14	100
LSPGALVQW	125	11	11	79
LTCGFADLNGY	2178	11	12	86
LTSMLIDPSM	1418	11	13	83
NAVATYRELQW	14	11	13	93
NHFFPQDQWF		11	11	79

(表XIIの続き)

HCV H58 スパ-モチ-7

配列	位置	アミノ酸の数	配列頻度	保存率 (%)
PAISFGALW	1889	11	12	86
PSVAATLGFGA	1281	11	14	100
PTDFRRESRL	108	11	12	86
PTHYVESDAA	1838	11	12	86
PTLHGPTRLY	1821	11	11	79
PTLLYRLGAV	1828	11	13	93
QAETAGARLW	1340	11	12	86
QAPPSWDOAM	1603	11	11	79
QYDFSLPTF	1465	11	12	86
RSQPRGRQFI	55	11	13	93
SADLEWTSTW	1655	11	11	79
SSASQISAPSL	2206	11	13	93
SSDLVLRHA	1132	11	12	86
STWLVGGILA	1662	11	12	86
TARHPVNSWL	2852	11	11	79
TSLTGRKQCV	1050	11	12	86
TSWLVGGVL	1662	11	12	86
TLPLSTGU	685	11	11	79
VAATLGGAYNA	1283	11	26	106
VAGALVAFKVN	1864	11	14	100
VAVEPWFSOM	974	11	12	86
VAYQATVCARA	1592	11	11	79
VAYIRGLNSV	1420	11	14	100
VISTWLVGGV	1661	11	12	86
WAQPGVPARLY	78	11	12	86
WARMINTIFF	2873	11	12	86
YAADGYKMYL	1249	11	11	79
YATONIPQCSF	164	11	12	86
YTNDCILVSW	1106	11	11	79

288

【0377】

【表15】

表 XIV

HCY B62 スーパーモーター

配列	位置	アミノ酸の数	配列頻度	保存率 (%)
ALLSPAL	1880	8	13	93
ALAHQVRV	150	8	14	100
ALSELQTA	1737	8	12	88
AFTLWARUM	2889	8	11	78
AQAPPSW	1602	8	12	88
AQGYKLV	1251	8	11	79
AVATYREL	1418	8	14	100
AVCTAGVA	1188	8	11	70
AVQWAMRL	1917	8	14	100
CLWAMALI	759	8	12	86
CASADLEV	1553	8	11	79
CCHLEPW	1556	8	12	86
CYTOTVDF	1482	8	12	88
DILAGYGA	1855	8	12	86
DLOGSVFL	278	8	12	86
DLNGYPL	122	8	11	78
DLNALIPA	1883	8	11	78
DOAETAGA	7328	8	12	88
EPTFGKA	1377	8	13	93
EGRKQAL	1731	8	12	86
EWTSITW	1859	8	12	88
FISGQYL	1773	8	14	180
FPGLQVRV	2515	8	11	79
HYGQGVV	24	8	14	100
FOVNLHIA	1228	8	12	88
GYQLAGL	1776	8	14	100
GLRLAVA	888	8	11	79
GPPLGVRA	41	8	13	93
GQNGGVV	28	8	14	100
GVAGALVA	1883	8	12	86
GVAKAVDF	1193	8	11	78
GVLAALAA	1670	8	12	86
GVKACQRA	2518	8	14	109
GVYCAAL	1900	8	11	79
HNGPSEGA	1910	8	11	78
HNSPTRV	1933	8	12	86
LGSHWAA	1818	8	12	88
LGISTVL	1331	8	12	86
LSPGALV	1891	8	13	83
MAKRNIF	2531	8	12	86
IPFYGNAL	1378	8	13	83
IFLVGAPL	137	8	11	78
KQKQVLY	701	8	12	86
NFFQLGV	2513	8	11	78
NGBWYL	30	8	13	93

(表Ⅷの続き)

HCY B62 スパ-モチ-7

箇乙列	位置	7ミの数の数	箇乙列類度	保存率 (%)
KUALYDWW	2525	0	12	86
KPARUVF	2608	0	12	88
KOKAUGLL	1734	0	12	86
KVPAAYAA	1244	0	11	79
LUEANLW	2236	0	12	85
LUNINGSW	414	0	11	79
LLALISCL	178	0	12	86
LLAPTJAY	1830	0	14	100
LLADARY	729	0	12	83
LLYRLGAV	1628	0	13	83
LMGTRPLY	133	0	11	79
LPALSTEL	687	0	14	100
LRGCSFS	389	0	13	93
LPRKSPFL	37	0	12	83
LPXCOHL	1553	0	13	83
LPYEGGM	1720	0	12	86
LOOCTMLV	2761	0	12	86
LVAYQATV	1891	0	12	85
LVDIJAGY	1853	0	11	79
LVGGMVLA	1667	0	12	86
LVINPSVA	1257	0	14	100
LVNLPAM	1884	0	11	79
LYTHWQDV	1137	0	12	85
LWQVWCA	1887	0	11	79
LVYICESA	2773	0	11	79
MLNTHFF	2878	0	12	86
MLTDPSTH	2178	0	14	100
NILGQWA	1815	0	12	86
NYDQOYL	700	0	12	86
NLUWQDA	2238	0	12	86
NPSVAATL	1360	0	14	100
PLQJAGRA	143	0	11	79
PLYRLBA	1628	0	13	93
PFTSWDCM	1606	0	12	86
PPSWOQWV	1608	0	11	79
PWAKZCL	2318	0	11	79
QNGOYL	28	0	13	93
QULRFOA	336	0	12	86
QFVDELE	2808	0	11	79
QFQVWPL	78	0	12	86
RLHLSAF	2918	0	11	79
RLNFRPL	2817	0	12	86
RLVLPITA	1628	0	12	86
RLWLATA	1347	0	12	86
RMAYWDMNM	317	0	12	86



(表2)の続き)

HCY B62 スパモナー

配列	位置	アミノ酸の数	配列頻度	保存率 [%]
RMILJATHF	2875	8	12	86
RPOYNFEL	2889	8	11	79
RODMNGN	2843	6	12	85
RVCERQAL	2821	6	14	100
RVESENKV	2252	6	12	86
RVEDRRW	2100	5	11	79
SFLLALL	175	8	14	100
SIDPTFTI	1478	8	14	100
SPDENRV	2931	8	11	79
SPGGRMEF	2649	8	11	79
SQLSAPSL	2208	8	12	93
SVAATLGF	1282	8	14	100
TAMAKNEV	2580	8	11	79
TLGFQATM	1266	8	11	79
TLHGPTPL	1822	8	12	93
TLGNPFI	1785	8	11	79
TLWARMIL	2871	8	11	79
TPCGSPCN	1875	8	11	79
TPGVPSL	223	8	12	86
TVGAPSL	1484	8	12	86
TVGARADA	1587	8	12	85
VIDQNTCV	1456	8	16	79
VLAALAAV	1871	8	12	86
VLEEDYDA	1521	8	12	86
VLDQIETA	1937	8	13	93
VLDGQNT	157	8	14	100
VLNFSVAA	1268	8	12	86
VLVGGSLA	1686	8	14	100
VLVGNPSV	1250	8	12	86
VNGSSYGF	2632	8	14	100
VPESDAAA	1940	8	11	79
VQWMPREI	1918	8	12	86
VVATDAAI	1438	8	14	100
VVGWVCAA	1898	8	11	79
VVTSTWVL	1860	8	11	79
WAINRDAF	1820	8	12	86
WPLILLIL	789	8	14	100
WVLGGSL	1665	8	12	86
YLAGSLTL	1779	8	12	86
YTFYLVHY	616	8	14	100
YVPESDAA	1938	8	14	100
YALSPGALV	1890	8	12	86
YALHGVRL	150	8	12	88
YLSGLHL	689	8	14	100
YLVGWVCA	1888	8	12	86
		8	11	79

(表XIIの続き)

HCV B62 スーパー-モチーフ

箇位列	位置	アミノ酸の数	配列頻度	保存率 (%)
APPSWDM	1804	9	12	85
AFTLWARI	2859	9	11	78
AQYKVAL	1251	9	11	79
AQGYWFL	77	9	12	66
AKQWARI	1817	9	14	100
ASADLEW	1853	9	11	79
DUGSVLY	279	9	11	79
DLEWTSTW	1857	9	12	88
DLMGYFLV	132	9	11	79
DVHLLPAI	1883	9	11	79
DLVNCESA	2772	9	11	79
DLYVTTRA	1134	9	12	86
DPQLSDSW	2410	9	11	79
DPRRSRL	111	9	12	88
EPTYGDAI	1377	9	13	93
EMGGNTRY	2245	9	12	86
EWSTTWL	1658	9	12	86
FESQVOLA	1773	9	14	100
FLAULSL	177	9	12	86
FLADARY	728	9	13	93
FQYSFQRY	2846	9	11	79
GISWLDQA	1333	9	14	100
GLPWQDHL	1552	9	13	93
GLDQAVAY	98	9	11	79
GLTHQAF	1589	9	13	93
GTESACW	1812	9	12	88
GTPLLYFL	1625	9	14	100
GZVGGVYL	28	9	13	93
GVADALVAF	1853	9	12	86
GVLAAALAY	1670	9	12	86
GVATATGNL	161	9	11	79
GVAVCEKMA	2818	9	14	100
GVWLEDGV	154	9	13	93
HLHNNIV	896	9	12	86
HLPIECSE	1718	9	11	79
HNWTFSE	1769	9	13	93
HQNVQVY	598	9	11	79
HMPGEGAV	1910	9	11	78
ILGYKGV	1856	9	11	79
ILSPDALW	1891	9	11	79
IALVLPFSV	1255	9	13	93
LITSCSNW	2816	9	14	100
LIVFPLQGV	2812	9	14	100
LLFLLLADA	726	9	14	79
LLFNLSGW	1712	9	12	100
				88

(表Ⅳの続き)

HCV B61 スーパーモーター (総合デ-9なし)

番列	位置	アノ酸の数	配列頻度	保存率 (%)
ULPRGPEL	30	9	12	83
LPALSPGA	1886	8	11	93
LPALSTGL	887	8	12	86
LPCEFEIV	2165	8	12	86
LPSCSFIF	168	9	13	93
LVGGYLAJ	1887	9	12	86
LVLPFSVA	1257	9	14	100
LVNLPAL	1864	9	11	78
LVTRHADW	1137	9	11	78
LVGRVCAA	1897	9	11	79
VLGGWVAA	1816	9	12	88
NRTGVRII	1282	8	11	78
NYGVVQLY	700	9	12	86
NLGVVQIL	118	9	13	93
NLPGCFER	168	9	11	79
NACDLVGV	1108	9	11	79
PLGGAAHAL	143	9	11	79
PLLYFLGV	1828	9	13	93
PPPSMOXW	1805	9	11	79
PPVWKCQL	2317	9	11	78
POREVDLE	2807	9	11	78
PRCDHLEF	1554	9	12	86
PONSWLGN	2857	9	14	100
QVGGVILL	29	9	13	93
QLSAPSLA	2310	9	11	79
QFVQLELI	2808	9	11	79
QFVWVWLY	78	9	12	86
QFVGFRCI	57	9	13	93
RLCAPITAY	1028	9	12	86
RLMLTHFF	2875	9	12	86
RVCCKUALY	2821	9	14	100
RVESENWV	2252	9	12	86
RVLEISWY	166	9	12	86
SGALWGV	2178	9	14	100
SGALWGV	1893	9	13	93
SGENRVA	2931	9	11	79
SPQCRVERL	2848	9	11	78
SPVGSHPSW	89	9	11	78
SVQCKNTCV	1465	9	12	86
TIMAKNEVF	2590	9	11	79
TUQPTPL	1822	9	11	79
TLPALSTGL	888	9	11	79
TLICCPAUL	125	9	12	86
TLWARMIDM	2877	9	11	78
TLLYVRLGA	1827	9	13	93

(表四の続き)

HCY B62 スパ-モチ-7

配列	位置	アミノ酸の数	配列頻度	保存率 (%)
TYLDQNETA	1336	9	14	100
YDITLCGF	122	9	12	88
VAEDGMYA	157	9	12	88
VLVDLAGY	1852	9	11	78
VLVGGLAA	1668	9	12	88
VLVLPNSA	1258	9	14	100
VOMMRELA	1318	9	14	100
WGWNCAN	1858	9	11	78
WISTWMLV	1680	9	12	88
WMAHLAFA	1920	9	14	100
WMLVGGVA	1665	9	12	88
YPLVGAFL	936	9	11	78
YLVAYDATV	1590	9	12	88
YLVTRHADV	1126	9	12	88
YQATVCARA	1594	9	13	93
YVGLLGSV	278	9	12	88
YVGVGSHL	637	9	13	93
YVPESDAAA	1939	9	12	88
ALSPGALVV	1890	10	12	88
ALVGVNCAA	1898	10	11	78
APPSNDQANV	1604	10	11	78
APTILWARML	2869	10	11	78
AQGYTMTLY	77	10	12	88
AVAYYRGLDV	1419	10	14	100
AVCTAGVAKA	1188	10	11	78
AVGMHARLJA	1917	10	14	100
CLPRLGNFTL	2941	10	12	88
CVTQITVDFSL	1462	10	12	88
DLAGYGAGV	1855	10	11	78
DLGNVISTWV	1857	10	12	88
DLGNVCEQAL	2617	10	13	93
DLSDGSWSIV	2412	10	11	78
DLVNLIPAL	1883	10	11	78
DQAEIAGARL	1329	10	12	88
DWFFGSDI	21	10	12	88
ELITSCESSW	2814	10	14	100
EORIKALGL	1731	10	12	88
EWISTWALV	1659	10	12	88
GLSAFSLSHY	2821	10	11	78
GLTLPGRPA	1782	10	14	100
GLTHDAHPL	1569	10	13	93
GRGSAVQMM	1912	10	12	88
GVGVSVLL	28	10	13	93
GVQVTVYHGA	1081	10	11	78
GVNVCERIAL	2619	10	14	100

(表XIVの続き)

HCY B62 スローモーション

配列	位置	ベアリング番号	アノードの数	配列頻度	保存率 (%)
HCNVDVYL	888		10	11	79
LAGYBAGVA	1856		10	11	79
LEGWVAQL	1816		10	12	86
BAKNEVECV	2581		10	11	79
KYLGLSTL	1777		10	14	100
NFRDGVWV	2413		10	11	79
KPTLHGFTPL	1620		10	11	79
KVOTLQGF	121		10	12	86
KVALNPSVA	1265		10	14	100
LLPNLGSWV	1812		10	12	88
LLPALSPBA	1887		10	13	93
LWQVPLVGA	133		10	11	79
LPALLPGAL	1838		10	13	93
LGCSFSEL	169		10	11	79
LPFRGTLGV	37		10	12	86
LPYOOHLEF	1553		10	12	86
LVAYQATVCA	1591		10	11	79
LVOLABYGA	1853		10	11	79
LVGSVALALA	1687		10	12	86
LVYQVQCAI	1897		10	11	79
MLTIPSHITA	2178		10	14	100
NLPCSSSIF	168		10	13	93
NPSVAATLEF	1280		10	14	100
PTVSTYKGF	1285		10	11	79
PLGGAARALA	143		10	11	79
POPETLELI	2007		10	11	79
PQOCHLERW	1554		10	11	79
PVNSWLANI	2857		10	12	86
PVVCFTSPV	508		10	14	100
CIJCERETV	2154		10	13	93
OPBGGKQPA	2154		10	12	88
RLJHLSAFSL	2601		10	11	79
RLMFPOLGV	2918		10	11	79
RLMWDMAAMW	2611		10	11	79
RLMWDMAAMW	317		10	12	86
RLMWDMAAMW	317		10	12	86
RLMWDMAAMW	155		10	12	86
RLMWDMAAMW	155		10	12	86
SLFSTSGEB	2926		10	11	79
SLTGKXKXV	1051		10	11	79
SPGALWGVW	1853		10	13	93
SQLSAFSLKA	2208		10	11	79
SOFRGKCH	58		10	11	79
SVANTLQFBA	1202		10	13	93
TLHSPHLLY	1822		10	14	100
TLFNLGSW	1811		10	11	79
TLFPALETGL	646		10	12	86
TLTCEPNDLM	125		10	11	79
TLTCEPNDLM	125		10	12	88

(表Ⅳの続き)

HCYB62スパーモナー7

配列	位置	7ミノ酸の数	配列頻度	保存率 (%)
TPCTDSSDL	1125	10	11	79
TPLYRLGAV	1827	10	13	93
TPNSWLGNI	2856	10	12	86
TVDFSLPTIF	1466	10	12	86
VDTLTGGEA	122	10	12	86
VLANLAAYCL	1871	10	12	86
VLDQAEAGA	1337	10	12	86
VLPSSVAATL	1258	10	14	100
VLTTSCGNIL	2737	10	11	79
VLVGGWLAAL	1658	10	12	86
VLVLPSSVAA	1256	10	14	100
VMSSTGFOY	2639	10	11	79
VPESDAARIV	1840	10	12	86
VGMWRLIAF	1818	10	14	100
VGVWICAIL	1888	10	11	79
WNLVGGVLA	1885	10	12	86
YLGSSGDFL	1165	10	12	86
YLPKPKIFL	35	10	13	93
YLVTHADIV	1116	10	11	79
YKDLGDSNF	276	10	12	86
ALVWGYGAAI	1898	11	11	79
APTGGSKTKV	1235	11	11	79
APTLWARMLM	2819	11	13	93
ADAPPSHDOM	1602	11	11	79
AUCTRGVAKAV	1186	11	12	86
AVGMWRLIAF	1817	11	14	100
DLAGYGAGVA	1855	11	14	100
DLEWTSIWWL	1657	11	11	79
ELGVRVCEKAA	2817	11	12	86
OLMGVPLVGA	132	11	13	93
OLVLYTHADY	1134	11	11	79
DQNETAGARIV	1339	11	12	86
DAVPRGEGIV	21	11	12	86
EGRKVAIGLL	1731	11	12	86
FRSGITLAGL	1773	11	12	86
FLADGGSGGA	1304	11	14	100
FRSGGONGGV	24	11	11	79
FRVSPQWVEF	2645	11	14	100
GVLYAGLSTL	1728	11	14	100
GLPQDRLIEF	1562	11	12	86
GLSTLPENPA	1712	11	11	79
GFPLLYRLGA	1825	11	13	93
GFVYCTPSPV	507	11	13	93
GVLANLAAYCL	1870	11	12	86
GVVRCENKALY	2618	11	14	100

(表XIVの続き)

HCVB62スパーモナー7

配列	位置	アミ酸の数	配列頻度	保存率 (%)
GVRLEDGNY	154	11	12	86
HLKKNWQY	896	11	11	78
HMNNEGQY	1768	11	13	93
HNNWQYLY	658	11	11	79
HQFEGAWQW	1910	11	11	78
ILGGWMAOLA	1816	11	12	86
LGRTALDOA	1331	11	12	85
LSGALWGV	1881	11	13	93
KPARLVFPDL	2608	11	11	78
KFTLKEPTLL	1820	11	11	78
KOKALGLLOTA	1734	11	12	86
KVDLTGSEA	121	11	12	85
KVLNLPSSVAA	1255	11	14	100
LATASRGNTV	1824	11	14	100
LITSQSNVSV	2815	11	14	100
LNVFOLGVRY	2812	11	11	79
LLFILLADARY	728	11	13	93
LLNLEGGWA	1812	11	12	86
LLPALLSPAL	1887	11	13	93
LLPRRGRFVG	36	11	13	83
LLSPRSFVSW	87	11	11	78
LLWFOBMGN	2240	11	12	86
LPALLSPGALV	1888	11	12	86
LPALSTGLRL	687	11	12	86
LPQCSFSL	169	11	13	93
LPACDHLERW	1563	11	12	86
LVGGVLAALAA	1667	11	12	86
LVNPSVAATL	1257	11	14	100
LVTRHGVIPV	1137	11	11	79
LVGGVCAAL	1887	11	11	78
NLGGWMAOL	1815	11	12	88
NITRSEKQV	2248	11	12	86
NLPALLSPGA	1886	11	13	93
NLPQCSFSL	188	11	13	93
PITYSTYQNL	1285	11	11	78
PLEGEGQRL	2403	11	13	93
PACFSYOTRCF	2887	11	11	78
PFSDQAMKCL	1808	11	11	78
PVNSWLGNIH	2857	11	12	86
PWCFIPSPW	508	11	13	93
PWVSGNBL	835	11	13	93
ROEMGENTRY	2243	11	12	88
RUCRQALYOV	2831	11	12	86
SPLALLSCL	175	11	12	86
SMAIDFPHIA	2176	11	14	100

(表XIVの続き)

HCY B62 スパモチ-7

配列	位置	アミノ酸の数	配列頻度	保存率 (%)
SPTHYPESDA	1935	11	12	96
SQLKCEPFW	2163	11	12	96
SVATILGFGAY	1262	11	14	100
TLGFGATMSKA	1266	11	12	96
TLLRNILGGW	1811	11	12	96
TPCTCRSSDLY	1126	11	11	79
TPGLPYCOOHL	1550	11	13	93
TPNNSWLENI	2858	11	12	86
TVLDQNETAGA	1336	11	12	86
VLDCEYDAGCA	1521	11	11	79
VLDILAGVGA	1852	11	11	79
VLGGVLAALA	1866	11	12	96
VQFEGGGRKPA	2600	11	11	79
VQVWNRILAF	1918	11	11	79
WCAALFRHV	1941	11	14	100
WVLGGVLAAL	1865	11	11	79
YLKSSGGPLL	1165	11	12	86
YLVAYCATYCA	1590	11	12	86
YCATVCARAOA	1594	11	11	79
YVGLISSVL	278	11	11	79
YVPESDAARV	1939	11	12	86

426

【0378】

【表16】



表 XV HCYA01 モチ-7 (結合情報を含む)

酉乙列	位置	アミノ酸の数	酉乙列頻度	保存率 (%)	A*0101
ASFCQSPY	166	26.0026	0	20	100
DNSVLSRKY	737	20.0255	10	16	90
FAAPFTDGY	631	20.0254	10	18	95
GFAAPFTDGY	630		11	18	85
GRETLEY	140		0	15	75
GYSLNFMGY	579	2.0058	9	17	85
HTLWKAGILY	149	1099.04	10	20	100
KQAFIFSPTY	653	20.0256	10	19	95
LLDTASALY	30	1089.01	9	17	85
LSLDVSAIFY	415	1090.07	10	19	95
LTFGRETLEY	137		11	15	75
MMWYWGFSLY	360	1039.01	10	17	95
MSITDLEAY	103	2.0126	9	15	75
NSVLSRKY	738	2.0123	9	18	90
PLDKGRPY	124	1147.12	9	20	100
PTTGRTSLY	124	1069.03	10	20	100
SASFQSPY	797	1090.09	9	17	95
SLOVSAIFY	165		9	20	100
SITOLEAY	416	1069.02	9	19	95
TTGRTSLY	104		8	15	75
WLSLDVSAIFY	786	26.0030	0	17	85
WMMWYWGFS	414	20.0551	11	18	95
YFALMPLY	359	1039.06	11	17	95
YSLNFMGY	640	19.0014	0	19	95
25	580	26.0032	0	17	85

【0379】

【表17】

表 XVI

HCY A03 モチーフ (結合情報を含む)

配列	位置	アミノ酸の数	配列頻度	保存率 (%)	A*0301
AACHWTRGR	647	10	12	88	0.0003
AARLAHGVR	147	10	11	79	
AATLGFGA	1284	8	14	100	
AATLGFGAY	1284	8	14	100	
AAVCTRGVA	1187	9	11	79	
AAVCTRGVAK	1187	10	11	79	
AAVCTREVAKA	1107	11	11	79	
ACHWTRGR	648	9	12	88	
ADGDCSQA	1308	8	11	79	
ADKCSGAY	1308	10	11	79	
ADVFVR	1142	0	12	88	0.0003
ADHVRGR	1142	0	11	79	
AFASHQNH	1828	0	14	100	
AGALVAFK	1865	0	12	88	
AGARLVILTA	1344	0	12	88	
AGLSTLQNPFA	1781	11	11	79	
AGVAGALVA	1862	9	14	100	
AGVAGALVAF	1862	10	12	88	
AGVAGALVAFK	1862	11	12	88	
AGWLSFR	94	0	12	88	0.0003
AGWLSFRGR	94	11	12	88	
AGVGAGVA	1850	0	12	88	
AGVGAGVAGA	1850	0	12	88	
ALLQITA	1737	10	12	88	
ALSTGLH	609	0	12	88	
ALSTGLHLH	609	0	12	88	
ALVGVVCA	1890	10	12	88	
ALVGVVCAAA	1890	0	11	79	
ASLMAFTA	1783	8	11	79	0.0260
ASQLSAPSLK	2208	10	11	79	
ASQLSAPSLKA	2208	11	11	79	
ASRQHVSPTH	1928	11	11	79	
ASSASQLSA	2204	11	12	88	
ATGNLPQCSF	185	10	14	100	
ATLGFQAY	1265	0	13	93	
ATLGFQAYHSK	1265	0	14	100	
ATRKTSER	48	0	12	88	
ATVCAHAQA	1896	9	11	79	
AVCTRGVA	1188	8	11	79	0.0260
AVCTRGVAK	1188	9	11	79	
AVCTRGVAKA	1188	10	11	79	
AVQWMLFLIA	1917	10	14	100	
AVQWMLFLIAP	1917	11	14	100	
CAALRRH	1903	8	13	83	

(表Ⅷの続き)

HCYA001 表7-7 (結合情報を含む)

配列	位置	アミノ酸の数	配列頻度	保存率 (%)	A*0301
CAWVELTFA	1530	9	11	78	
CGFAQLNGY	128	9	13	83	
CGNTLTCY	2742	8	11	79	
CGSSDALVIR	1130	11	11	79	
CGTRRRCRA	2727	8	14	100	
CLRLGLVPLLR	2841	11	12	86	
CSFSFLLA	172	9	14	100	
CSSNVSVIA	2819	6	14	100	
CSSNVSAH	2819	8	12	86	
CTGSSSLY	1128	9	11	79	
CTRGVAKA	1190	8	11	79	
CTRGVAKAVDF	1190	11	11	79	0.0001
CTWVNSTGF	655	8	11	79	
CTWVNSTGTFK	555	11	11	79	
CXPFKGGG	2589	9	11	78	0.7800
CXPFKGGFK	2589	10	11	79	0.0009
CYTQTVDF	1452	8	12	86	0.0011
DAHFLSQIK	1574	8	14	100	
DGLWVCESA	2771	10	11	78	0.0003
DFSLDTIF	1468	8	14	100	
DGLWCEGA	1307	8	11	79	
DGLWCEGAV	1307	9	11	79	
DMCEEGT	1318	9	12	88	
DLAGYGA	1855	8	12	88	
DLAGYGCAGYA	1855	11	17	79	
DLGWVCEK	2617	9	13	93	
DLGWVCEGMA	2617	11	13	93	0.0003
DLMQVPLVGA	132	11	11	79	
ELVNLIPA	1883	8	11	78	
ELVNCESA	2772	9	11	78	
ELVNTFH	1134	8	12	88	
ELVNTVRA	1134	9	12	88	
ELVTCGFA	124	8	12	86	
DVWVRRH	1143	8	12	86	
EAMTRYSA	2784	6	11	79	
ECDAGCA	1524	8	14	100	0.0003
ECDAGCANY	1524	10	11	78	
ELVNLIPA	1882	9	11	79	
EGACVMMH	1915	9	14	100	
EGVTKA	1377	8	13	93	0.0004
EGGNTIR	2245	8	12	88	
ETAGARLVLA	1342	11	12	86	
ETVRSVWF	1207	8	12	86	
EVGQCEK	2686	8	12	86	0.0008
FQVDFEGR	2586	10	11	78	

(表Ⅳの続き)

HCYA01 モデル (結合情報を含む)

配列	位置	アミノ酸の数	配列頻度	保存率 (%)	A*0301
FOFPGGPK	2590	11	11	79	
FGAYNSKA	1208	8	12	86	
FGAYNEAH	1208	9	12	86	
FGCTWNSGTF	553	11	11	78	
FGYGAQVR	2554	8	12	88	
FISQKTYLA	1773	8	14	100	0.0008
FLADGCSGCA	1304	11	11	79	
FLLADAR	720	8	14	100	
FSDYTRCF	2070	8	11	78	
FTEAMTRY	2782	10	14	100	
FTEAMTRYSA	2782	9	13	83	
FTGLTHDA	1507	10	13	93	
FTGLTHDAH	1567	11	13	93	
FTGLTHDAHF	1667	8	11	79	
GAARALAI	146	11	11	79	
GAARALAHVR	146	11	11	79	
GAGVADALVA	1861	10	12	86	
GAGVAGALVAF	1861	11	12	86	
GARGWGLA	350	8	12	88	
GALVGVVCA	1895	10	11	79	
GALVGVVCAA	1895	11	11	79	
GARLVLA	1343	8	12	86	
GARLVLAATA	1343	10	11	78	
GANCHANTI	1916	8	14	100	
GAVERMARFLA	1916	11	14	100	
GAYNSKAAH	1270	8	12	88	
GCAWVELTPA	1528	10	11	79	
GCSFSLA	171	10	11	79	
GCTWNSGTF	554	10	14	100	
GDLVWDESA	2770	11	11	79	
GLDGSVF	2770	11	11	79	
GFADLNGY	129	8	12	86	
GFAYNSK	1288	8	13	93	
GFAYNSKA	1288	8	12	88	
GFAYNSKAAH	1288	9	12	88	
GFQNSQDF	2645	10	12	88	
GFSDYTRCF	2689	9	11	79	
GGADRLA	145	8	11	79	
GGARALAI	145	8	11	79	
GGCSGGAY	1308	8	11	79	
GGQVGGWY	26	10	14	100	
GGWQMA	935	8	11	79	
GGWGVVY	27	9	14	100	
GGWLVPH	1382	9	14	100	0.0003
GGWLVPHCK	1382	11	14	100	

(表XIVの続き)

HCY A01 モデル7 (結合情報を含む)

配列	位置	7-置の数	配列頻度	保存率 (%)	A-0501
GGKPAKLVNF	2805	11	11	79	
GGVLAALA	1689	8	12	80	
GGVLAALAA	1689	9	12	86	
GGVLAALAAV	1689	10	12	98	
GGVILVFI	32	7	13	93	
GGVILVFI	32	8	13	93	
GGVNAQQA	1818	9	12	86	0.0003
GKITALDCA	1333	9	14	100	
GLLUPNR	3037	8	11	79	
GLPACCH	1552	8	13	93	
GLPACCHLEF	1552	11	12	86	
GLPVSARR	1004	0	11	79	
GLRIALVA	988	0	11	79	
GLSAFSLH	2921	0	11	79	
GLSAFSLISY	2921	0	11	79	
GLSLFGNPA	1782	10	14	100	
GLTHIDAH	1569	8	13	93	
GLTHIDAH	1569	9	13	93	
GLTHIDAH	1569	10	12	86	
GLTHIDAH	1569	11	12	86	
GLTHIDAH	1569	12	12	86	
GLTHIDAH	1569	13	12	86	
GLTHIDAH	1569	14	12	86	
GLTHIDAH	1569	15	12	86	
GLTHIDAH	1569	16	12	86	
GLTHIDAH	1569	17	12	86	
GLTHIDAH	1569	18	12	86	
GLTHIDAH	1569	19	12	86	
GLTHIDAH	1569	20	12	86	
GLTHIDAH	1569	21	12	86	
GLTHIDAH	1569	22	12	86	
GLTHIDAH	1569	23	12	86	
GLTHIDAH	1569	24	12	86	
GLTHIDAH	1569	25	12	86	
GLTHIDAH	1569	26	12	86	
GLTHIDAH	1569	27	12	86	
GLTHIDAH	1569	28	12	86	
GLTHIDAH	1569	29	12	86	
GLTHIDAH	1569	30	12	86	
GLTHIDAH	1569	31	12	86	
GLTHIDAH	1569	32	12	86	
GLTHIDAH	1569	33	12	86	
GLTHIDAH	1569	34	12	86	
GLTHIDAH	1569	35	12	86	
GLTHIDAH	1569	36	12	86	
GLTHIDAH	1569	37	12	86	
GLTHIDAH	1569	38	12	86	
GLTHIDAH	1569	39	12	86	
GLTHIDAH	1569	40	12	86	
GLTHIDAH	1569	41	12	86	
GLTHIDAH	1569	42	12	86	
GLTHIDAH	1569	43	12	86	
GLTHIDAH	1569	44	12	86	
GLTHIDAH	1569	45	12	86	
GLTHIDAH	1569	46	12	86	
GLTHIDAH	1569	47	12	86	
GLTHIDAH	1569	48	12	86	
GLTHIDAH	1569	49	12	86	
GLTHIDAH	1569	50	12	86	
GLTHIDAH	1569	51	12	86	
GLTHIDAH	1569	52	12	86	
GLTHIDAH	1569	53	12	86	
GLTHIDAH	1569	54	12	86	
GLTHIDAH	1569	55	12	86	
GLTHIDAH	1569	56	12	86	
GLTHIDAH	1569	57	12	86	
GLTHIDAH	1569	58	12	86	
GLTHIDAH	1569	59	12	86	
GLTHIDAH	1569	60	12	86	
GLTHIDAH	1569	61	12	86	
GLTHIDAH	1569	62	12	86	
GLTHIDAH	1569	63	12	86	
GLTHIDAH	1569	64	12	86	
GLTHIDAH	1569	65	12	86	
GLTHIDAH	1569	66	12	86	
GLTHIDAH	1569	67	12	86	
GLTHIDAH	1569	68	12	86	
GLTHIDAH	1569	69	12	86	
GLTHIDAH	1569	70	12	86	
GLTHIDAH	1569	71	12	86	
GLTHIDAH	1569	72	12	86	
GLTHIDAH	1569	73	12	86	
GLTHIDAH	1569	74	12	86	
GLTHIDAH	1569	75	12	86	
GLTHIDAH	1569	76	12	86	
GLTHIDAH	1569	77	12	86	
GLTHIDAH	1569	78	12	86	
GLTHIDAH	1569	79	12	86	
GLTHIDAH	1569	80	12	86	
GLTHIDAH	1569	81	12	86	
GLTHIDAH	1569	82	12	86	
GLTHIDAH	1569	83	12	86	
GLTHIDAH	1569	84	12	86	
GLTHIDAH	1569	85	12	86	
GLTHIDAH	1569	86	12	86	
GLTHIDAH	1569	87	12	86	
GLTHIDAH	1569	88	12	86	
GLTHIDAH	1569	89	12	86	
GLTHIDAH	1569	90	12	86	
GLTHIDAH	1569	91	12	86	
GLTHIDAH	1569	92	12	86	
GLTHIDAH	1569	93	12	86	
GLTHIDAH	1569	94	12	86	
GLTHIDAH	1569	95	12	86	
GLTHIDAH	1569	96	12	86	
GLTHIDAH	1569	97	12	86	
GLTHIDAH	1569	98	12	86	
GLTHIDAH	1569	99	12	86	
GLTHIDAH	1569	100	12	86	
GLTHIDAH	1569	101	12	86	
GLTHIDAH	1569	102	12	86	
GLTHIDAH	1569	103	12	86	
GLTHIDAH	1569	104	12	86	
GLTHIDAH	1569	105	12	86	
GLTHIDAH	1569	106	12	86	
GLTHIDAH	1569	107	12	86	
GLTHIDAH	1569	108	12	86	
GLTHIDAH	1569	109	12	86	
GLTHIDAH	1569	110	12	86	
GLTHIDAH	1569	111	12	86	
GLTHIDAH	1569	112	12	86	
GLTHIDAH	1569	113	12	86	
GLTHIDAH	1569	114	12	86	
GLTHIDAH	1569	115	12	86	
GLTHIDAH	1569	116	12	86	
GLTHIDAH	1569	117	12	86	
GLTHIDAH	1569	118	12	86	
GLTHIDAH	1569	119	12	86	
GLTHIDAH	1569	120	12	86	
GLTHIDAH	1569	121	12	86	
GLTHIDAH	1569	122	12	86	
GLTHIDAH	1569	123	12	86	
GLTHIDAH	1569	124	12	86	
GLTHIDAH	1569	125	12	86	
GLTHIDAH	1569	126	12	86	
GLTHIDAH	1569	127	12	86	
GLTHIDAH	1569	128	12	86	
GLTHIDAH	1569	129	12	86	
GLTHIDAH	1569	130	12	86	
GLTHIDAH	1569	131	12	86	
GLTHIDAH	1569	132	12	86	
GLTHIDAH	1569	133	12	86	
GLTHIDAH	1569	134	12	86	
GLTHIDAH	1569	135	12	86	
GLTHIDAH	1569	136	12	86	
GLTHIDAH	1569	137	12	86	
GLTHIDAH	1569	138	12	86	
GLTHIDAH	1569	139	12	86	
GLTHIDAH	1569	140	12	86	
GLTHIDAH	1569	141	12	86	
GLTHIDAH	1569	142	12	86	
GLTHIDAH	1569	143	12	86	
GLTHIDAH	1569	144	12	86	
GLTHIDAH	1569	145	12	86	
GLTHIDAH	1569	146	12	86	
GLTHIDAH	1569	147	12	86	
GLTHIDAH	1569	148	12	86	
GLTHIDAH	1569	149	12	86	
GLTHIDAH	1569	150	12	86	
GLTHIDAH	1569	151	12	86	
GLTHIDAH	1569	152	12	86	
GLTHIDAH	1569	153	12	86	
GLTHIDAH	1569	154	12	86	
GLTHIDAH	1569	155	12	86	
GLTHIDAH	1569	156	12	86	
GLTHIDAH	1569	157	12	86	
GLTHIDAH	1569	158	12	86	
GLTHIDAH	1569	159	12	86	
GLTHIDAH	1569	160	12	86	
GLTHIDAH	1569	161	12	86	
GLTHIDAH	1569	162	12	86	
GLTHIDAH	1569	163	12	86	
GLTHIDAH	1569	164	12	86	
GLTHIDAH	1569	165	12	86	
GLTHIDAH	1569	166	12	86	
GLTHIDAH	1569	167	12	86	
GLTHIDAH	1569	168	12	86	
GLTHIDAH	1569	169	12	86	
GLTHIDAH	1569	170	12	86	
GLTHIDAH	1569	171	12	86	
GLTHIDAH	1569	172	12	86	
GLTHIDAH	1569	173	12	86	
GLTHIDAH	1569	174	12	86	
GLTHIDAH	1569	175	12	86	
GLTHIDAH	1569	176	12	86	
GLTHIDAH	1569	177	12	86	
GLTHIDAH	1569	178	12	86	
GLTHIDAH	1569	179	12	86	
GLTHIDAH	1569	180	12	86	
GLTHIDAH	1569	181	12	86	
GLTHIDAH	1569	182	12	86	
GLTHIDAH	1569	183	12	86	
GLTHIDAH	1569	184	12	86	
GLTHIDAH	1569	185	12	86	
GLTHIDAH	1569	186	12	86	
GLTHIDAH	1569	187	12	86	
GLTHIDAH	1569	188	12	86	
GLTHIDAH	1569	189	12	86	
GLTHIDAH	1569	190	12	86	
GLTHIDAH	1569	191	12	86	
GLTHIDAH	1569	192	12	86	
GLTHIDAH	1569	193	12	86	
GLTHIDAH	1569	194	12	86	
GLTHIDAH	1569	195	12	86	
GLTHIDAH	1569	196	12	86	
GLTHIDAH	1569	197	12	86	
GLTHIDAH	1569	198	12	86	
GLTHIDAH	1569	199	12	86	
GLTHIDAH	1569	200	12	86	
GLTHIDAH	1569	201	12	86	
GLTHIDAH	1569	202	12	86	
GLTHIDAH	1569	203	12	86	
GLTHIDAH	1569	204	12	86	
GLTHIDAH	1569	205	12	86	
GLTHIDAH	1569	206	12	86	
GLTHIDAH	1569	207	12	86	
GLTHIDAH	1569	208	12	86	
GLTHIDAH	1569	209	12	86	
GLTHIDAH	1569	210	12	86	
GLTHIDAH	1569	211	12	86	
GLTHIDAH	1569	212	12	86	
GLTHIDAH	1569	213	12	86	
GLTHIDAH	1569	214	12	86	
GLTHIDAH	1569	215	12	86	
GLTHIDAH	1569	216	12	86	
GLTHIDAH	1569	217	12	86	
GLTHIDAH	1569	218	12	86	
GLTHIDAH	1569	219	12	86	
GLTHIDAH	1569	220	12	86	
GLTHIDAH	1569	221	12	86	
GLTHIDAH	1569	222	12	86	
GLTHIDAH	1569	223	12	86	
GLTHIDAH	1569	224	12	86	
GLTHIDAH	1569	225	12	86	
GLTHIDAH	1569	226	12	86	
GLTHIDAH	1569	227	12	86	
GLTHIDAH	1569	228	12	86	
GLTHIDAH	1569	229	12	86	
GLTHIDAH	1569	230	12	86	
GLTHIDAH	1569	231	12	86	
GLTHIDAH	1569	232	12	86	
GLTHIDAH	1569	233	12	86	
GLTHIDAH	1569	234	12	86	
GLTHIDAH	1569	235	12	86	
GLTHIDAH	1569	236	12	86	
GLTHIDAH	1569	237	12	86	
GLTHIDAH	1569	238	12	86	
GLTHIDAH	1569	239	12	86	
GLTHIDAH	1569	240	12	86	
GLTHIDAH	1569	241	12	86	

HCV A01 毛7-7 (結合情報を含む)

配列	位置	7-ノ酸の数	配列頻度 (%)	保率率 A'0301
HADPVRER	1141	10	11	79
HAPTSCK	1234	8	14	100
HAPTSCKSTK	1234	11	13	93
HCLAFSUH	2920	8	11	79
HCLSAFSJHSY	2920	11	11	79
HCPITLLY	1624	9	11	79
HCPITLLYR	1624	9	11	79
HDAIFLSOTK	1572	11	14	100
HDAIFLSOTK	1572	11	14	100
HDAIFLSOTK	1232	10	12	88
HUKQVNOVY	986	11	11	79
HUFCHSK	1395	8	14	100
HUFCHSK	1395	2	14	100
HUFCHSK	1395	10	14	100
HUKWFSQZY	1768	11	13	93
HSKKUCDELA	1400	10	14	100
HSKKUCDELA	1400	11	14	100
HSYSGENH	2928	10	11	79
HTRGAPCVR	222	10	11	79
HMGCEA	1810	0	11	79
IAFASRGH	1826	9	14	100
IDAIFLSOTK	1573	10	14	100
IDILTCGF	123	8	12	88
IDILTCGF	123	9	12	88
ICHKSK	1397	8	14	100
IGTVLQDA	1334	0	14	100
IGTVLQDA	1334	11	14	100
IGTVLQDA	1317	8	12	88
LAGYAGVIA	1656	10	11	79
LGGMWAA	1816	8	12	88
LGGMWAA	1816	11	12	88
LGGMWAA	1816	11	12	88
LGGMWAA	1331	0	14	100
LGGMWAA	1331	8	14	100
LGGMWAA	2591	9	12	86
LGGMWAA	1774	8	14	100
LGGMWAA	2250	9	12	86
LGGMWAA	2818	11	14	100
LGGMWAA	989	0	12	88
LGGMWAA	989	9	12	88
LGGMWAA	1236	8	12	88
LGGMWAA	1286	9	12	88
LGGMWAA	1286	11	11	79
LGGMWAA	701	0	12	88
LGGMWAA	2813	9	11	79
LGGMWAA	30	10	13	93
LGGMWAA	30	11	13	93
LGGMWAA	1736	9	12	88

(表XIIの続き)

HCY A01 エチ-7 (結合情報を含む)

配列	位置	7-merの数	配列頻度	保存率 (%)	A*0301
KDELAALK	1404	8	12	86	
KFGYGAKQVR	2553	10	12	86	
KGGHLLF	1391	8	11	79	
KGGHLLFCH	1391	10	11	79	
KGGKPPAR	2604	8	11	78	
KLGVPFLR	2844	8	11	86	
KSTKVPAA	1241	8	12	86	
KSTKVPAAAY	1241	8	12	86	
KSTKVPAAAYA	1241	10	12	86	0.0009
KSTKVPAAAYAA	1241	11	11	78	
KTKNTNRI	10	8	12	86	
KTKNTNRIIR	10	9	12	86	
KTSRSQRI	51	8	13	93	0.0110
KTSRSQRIQR	51	11	12	90	0.1800
KVIDLTGCF	121	10	12	86	
KVIDLTGFA	121	11	12	88	
KVALNPSVA	1295	10	14	100	
KVLNPSVAA	1295	11	14	100	
KVPAATAA	1244	8	11	79	
LADGGSCGA	1305	10	11	79	
LADGGSCGAY	1305	11	11	79	
LAEDFQK	1729	8	12	86	
LAEDFQKA	1729	9	12	86	
LAGYGAGVA	1057	9	11	79	
LAGYGAGVACA	1057	11	11	79	
LGECYDACA	1322	10	11	79	
LDAETAGA	1338	9	12	86	
LDOETAGAT	1338	10	12	86	
LFLLLADA	727	0	14	100	
LFLLLADAR	727	9	14	100	
LFNLGGWA	1813	10	12	86	
LFNLGGWAA	1813	11	12	86	
LTFESPTI	290	8	11	79	
LGFAYUSK	1287	9	12	86	0.0810
LGFAYUSKA	1287	9	12	86	
LGFAYUSKAI	1287	10	12	86	
LGGARALA	144	9	11	79	
LGGARALAI	144	10	11	79	
LGGWAMOLA	1817	10	12	86	
LGGTYLDOA	1332	8	13	93	
LGVRAIRK	44	8	12	86	
LGVRCERKA	2818	8	14	100	
LAFASRQNH	1924	10	14	100	
LIEANLLWR	2236	9	12	85	0.0008

(表XIIの続き)

HCYA03 エキス (結合情報を含む)

配列	位置	アミ酸の数	配列頻度	保存率 (%)	A*0301
LFCHSKK	1398	0	14	100	
LFCHSKK	1398	9	14	100	0.5400
LVNCSWH	414	9	11	79	
LVPPQGVH	2612	10	11	79	0.0003
LVPTIAY	1030	8	14	100	
LVFLLADA	726	9	14	100	0.0016
LVFLLADA	726	10	14	100	
LVFLLGQVVA	1812	17	12	86	
LVPAISPGA	1887	10	13	93	0.0003
LVPPGPR	38	8	13	93	
LVPPGPR	38	9	12	88	
LVPPGPR	38	10	13	93	
LVPPGPR	38	11	12	88	
LVPPGPR	38	12	13	93	
LVPPGPR	38	13	12	88	
LVPPGPR	38	14	11	79	
LVPPGPR	38	15	11	79	
LVPPGPR	38	16	11	79	
LVPPGPR	38	17	12	86	
LVPPGPR	38	18	12	86	
LVPPGPR	38	19	12	86	
LVPPGPR	38	20	12	86	
LVPPGPR	38	21	12	86	
LVPPGPR	38	22	12	86	
LVPPGPR	38	23	12	86	
LVPPGPR	38	24	12	86	
LVPPGPR	38	25	12	86	
LVPPGPR	38	26	12	86	
LVPPGPR	38	27	12	86	
LVPPGPR	38	28	12	86	
LVPPGPR	38	29	12	86	
LVPPGPR	38	30	12	86	
LVPPGPR	38	31	12	86	
LVPPGPR	38	32	12	86	
LVPPGPR	38	33	12	86	
LVPPGPR	38	34	12	86	
LVPPGPR	38	35	12	86	
LVPPGPR	38	36	12	86	
LVPPGPR	38	37	12	86	
LVPPGPR	38	38	12	86	
LVPPGPR	38	39	12	86	
LVPPGPR	38	40	12	86	
LVPPGPR	38	41	12	86	
LVPPGPR	38	42	12	86	
LVPPGPR	38	43	12	86	
LVPPGPR	38	44	12	86	
LVPPGPR	38	45	12	86	
LVPPGPR	38	46	12	86	
LVPPGPR	38	47	12	86	
LVPPGPR	38	48	12	86	
LVPPGPR	38	49	12	86	
LVPPGPR	38	50	12	86	
LVPPGPR	38	51	12	86	
LVPPGPR	38	52	12	86	
LVPPGPR	38	53	12	86	
LVPPGPR	38	54	12	86	
LVPPGPR	38	55	12	86	
LVPPGPR	38	56	12	86	
LVPPGPR	38	57	12	86	
LVPPGPR	38	58	12	86	
LVPPGPR	38	59	12	86	
LVPPGPR	38	60	12	86	
LVPPGPR	38	61	12	86	
LVPPGPR	38	62	12	86	
LVPPGPR	38	63	12	86	
LVPPGPR	38	64	12	86	
LVPPGPR	38	65	12	86	
LVPPGPR	38	66	12	86	
LVPPGPR	38	67	12	86	
LVPPGPR	38	68	12	86	
LVPPGPR	38	69	12	86	
LVPPGPR	38	70	12	86	
LVPPGPR	38	71	12	86	
LVPPGPR	38	72	12	86	
LVPPGPR	38	73	12	86	
LVPPGPR	38	74	12	86	
LVPPGPR	38	75	12	86	
LVPPGPR	38	76	12	86	
LVPPGPR	38	77	12	86	
LVPPGPR	38	78	12	86	
LVPPGPR	38	79	12	86	
LVPPGPR	38	80	12	86	
LVPPGPR	38	81	12	86	
LVPPGPR	38	82	12	86	
LVPPGPR	38	83	12	86	
LVPPGPR	38	84	12	86	
LVPPGPR	38	85	12	86	
LVPPGPR	38	86	12	86	
LVPPGPR	38	87	12	86	
LVPPGPR	38	88	12	86	
LVPPGPR	38	89	12	86	
LVPPGPR	38	90	12	86	
LVPPGPR	38	91	12	86	
LVPPGPR	38	92	12	86	
LVPPGPR	38	93	12	86	
LVPPGPR	38	94	12	86	
LVPPGPR	38	95	12	86	
LVPPGPR	38	96	12	86	
LVPPGPR	38	97	12	86	
LVPPGPR	38	98	12	86	
LVPPGPR	38	99	12	86	
LVPPGPR	38	100	12	86	



(表XIVの続き)

HCYA03 エキス (結合情報を含む)

配列	位置	アミノ酸の数	配列頻度	保存率 (%)	A*0301
NIISGKY	1772	8	14	100	
NIISGQYLA	1772	10	14	100	
NIISGWTY	1080	0	11	79	
NIISGWTYH	1080	9	11	79	
NIISGWTYHGA	1080	11	11	79	
NIISGWA	1815	8	12	86	
NIISGWAA	1816	8	12	86	
NIISGSEK	2248	10	12	86	0.0010
NIISGTYL	700	9	12	86	0.0005
NIISGALSGA	1888	11	13	93	
NIISGSEIF	168	10	13	93	
NIISGTYDVF	1460	10	12	86	
NIISGTYDK	14	10	11	79	0.0010
NIISGTYDKF	14	11	11	79	
NIISGTYDGH	1549	11	13	93	
NIISGPA	1089	8	13	93	
NIISGTLH	688	9	12	86	
NIISGTLHLH	688	11	12	86	
NIISGSLR	1978	8	11	79	
NIISGSSLY	1127	10	11	79	
NIISGMSCK	2618	10	13	83	
NIISGNGVCA	1894	11	11	79	
NIISGSEF	770	8	14	100	
NIISGSLA	170	11	14	100	
NIISGPOV	224	0	12	86	
NIISGNIWA	1913	11	13	93	
NIISGSEAF	2832	0	11	79	
NIISGNIWA	1509	0	12	86	
NIISGNGVY	25	11	14	100	
NIISGTYDGH	1851	8	13	93	
NIISGTYL	79	8	14	100	
NIISGTYCK	1295	9	11	79	
NIISGTYGRF	1286	10	11	79	
NIISGAARA	143	8	11	79	
NIISGAARALAH	143	10	11	79	
NIISGLA	143	11	11	79	
NIISGSLR	1828	0	13	93	
NIISGTYDGH	2687	9	11	79	
NIISGTYDGH	2067	11	11	79	
NIISGTYDGH	514	11	13	93	
NIISGTYDGH	1281	9	14	100	
NIISGTYDGH	1261	11	14	100	
NIISGTYDGH	1607	0	11	79	
NIISGTYDGH	587	0	13	93	
NIISGTYDGH	108	9	12	86	0.0008

HCV A03 モチ-7 (結合情報を含む)

[illegible]

(表XXIの続き)

HCYA01 モチーフ (結合情報を含む)

自己列	位置	7/10の数の	自己列頻度	保存率 (%)	A*0301
RALEDGANY	156	1174.17	12	88	0.0120
RAEDGNVYA	156		12	88	
SAFSLSY	2923		11	79	
SASQLSAPSLK	2207		11	79	
SCSSNVSVA	2010		9	100	
SCSSNVSVAH	2010		10	88	
SDLYLVTR	1133		12	86	
SDLYLVTRH	1133		9	86	
SDLYLVTRHA	1133		10	86	
SFSFLA	173		14	86	
SGKSTKPPA	1239		12	100	
SGKSTKPPAA	1239		12	88	
SGKSTKPPAAY	1239		12	86	
SMITDPFH	2170		12	86	
SMITDPFHITA	2170		14	100	
SSASQLSA	2206		14	100	
SSQLYVTR	1132		12	88	0.0003
SSQLYVTRH	1132		12	86	0.0003
SSQLYVTRHA	1132		12	86	
SSNVSVAH	2020		12	88	
SSSASQNSA	2206		14	100	
STGLH4H	891		12	88	
STKVPAAV	1242		12	86	
STKVPAAVA	1242		12	86	
STKVPAAVA	1242		12	86	
SILPAPPA	1704		11	79	
SINPAPOR	2		14	100	
SINPAPORIK	2		11	79	
STWMLVSGVLA	1663		11	79	
STYGNFLA	1299		12	86	
EVAATLGF	1282		12	86	
SVANTLQFGA	1282		14	100	
SVANTLQFGAY	1282		14	100	
TAGARLVVLA	1343		11	100	
TGGFADLNGY	127		10	86	
TGSSSOLY	1120		13	93	
TCVITVDF	1461		11	79	
TOPPRER	110		12	86	
TOPPRITA	2101		12	86	
TGEPFNGK	1375		14	100	
TGEFFYGA	1375		11	79	
TGLTHQDA	1580		11	79	
TGLYHDAH	1588		13	93	0.0003
TGLTHDAHF	1588		13	93	

(表XIVの続き)

HCY A03 エター (結合情報を含む)

配列	位置	アミ酸の数	配列頻度	保存率 (%)	A*0301
TGNFGSE	166	8	13	93	
TGSGSKK	1237	8	13	93	
TGSGSKYPA	1237	11	12	86	
THMKNVF	2590	9	11	79	
TLGFGATMSK	1266	10	12	86	0.0810
TLGFGATMSKA	1266	11	12	86	
TLHGPTLLY	1622	10	11	79	0.0890
TLHGPTLLYR	1622	11	11	79	
TLPALSTGLH	886	11	11	79	
TLWARMILITH	2071	11	11	79	
TSCSSNWSVA	2017	10	14	100	
TSCSSNWSVAH	2017	11	12	96	
TSEISOFR	52	8	13	93	0.0003
TSEISOFRGR	52	10	12	86	
TSLIGPOK	1050	11	12	86	
TSMIDPSH	2177	8	12	86	
THMKNVF	2508	10	13	93	0.0003
THMSPVF	1208	8	12	86	
TVCARAOA	1597	8	11	79	
TVFSLDPTF	1486	10	12	86	
TVLDQNETA	1338	8	14	100	
TVLDQNETAG	1338	11	12	86	
VANTLGFQA	1203	9	14	100	
VANTLGFQAT	1203	10	14	100	
VAGALYVF	1064	8	12	86	
VAGALYAFK	1064	9	12	86	0.2400
VAYQATVCA	1592	9	12	86	
VAYQATVCAR	1592	10	11	79	0.0005
VAYQATVCARA	1592	11	11	79	
VCAHLRR	1902	8	11	79	
VCAHLRRH	1902	8	11	79	
VCRWALY	2622	8	11	79	
VCRWALY	2622	8	14	100	
VCRWVCF	505	8	13	93	
VCRWVCF	1555	8	12	86	
VCTRGVAK	1109	8	12	86	
VCTRGVAKA	1109	9	11	79	
VQWVYHGA	1082	9	11	79	
VQWVYHGA	1082	8	14	100	
VQWVYHGA	1487	8	11	79	
VQWVYHGA	1654	8	11	79	
VQWVYHGA	814	9	13	93	
VQWVYHGA	814	10	13	93	
VQWVYHGA	2597	8	12	86	
VQWVYHGA	2597	11	11	79	
VQWVYHGA	2814	0	11	79	

(表XIVの続き)

HCY A01 モチーフ (結合情報を含む)

配列	位置	アミノ酸の数	配列頻度	保存率 (%)	A*0301
VFTGLTINCA	1588	10	13	93	
VFTOLTHDWH	1588	11	13	93	
VGLCCSYF	277	8	12	86	
VGGVLAALA	1588	8	12	86	
VGGVLAALAA	1588	10	12	88	
VGGVLAALAAV	1588	11	12	88	
VGGVILPR	31	9	13	93	0.0003
VGGVILPRR	31	9	13	93	
VGTLPNR	3836	10	13	93	
VGVYCAILR	1889	10	11	79	0.0007
VGVYCAILRR	1889	11	11	79	
VIDLTCGF	122	9	12	86	
VIDLTCGFA	122	10	12	86	
VLAALAY	1671	0	13	93	
VLCCTDA	1521	0	12	86	
VLCCTDAGCA	1521	11	11	79	
VLDIAETA	1337	0	14	100	
VLDIAETAGA	1337	10	12	86	
VLDIAETAGAR	1337	11	12	88	
VLEDGNY	157	8	12	86	
VLEDGNYA	157	9	12	86	
VLPNSVAA	1258	0	14	100	
VLSMLTDFSH	2175	11	13	93	
VLVDLAGY	1852	0	11	79	
VLVDLAGYGA	1852	11	11	79	
VLVGGVLA	1600	0	12	86	
VLVGGVLA	1600	0	12	86	
VLVGGVLAALA	1600	11	12	86	0.0003
VLVLPNSVA	1258	9	14	100	
VLVLPNSVAA	1258	10	14	100	0.0003
VMSSTYGF	2639	8	11	79	
VMSSTYGFY	2639	10	11	79	
VTRDAEPVPR	1128	11	11	79	
VYCAILR	1801	8	11	79	
VYCAILRR	1801	9	11	79	
VYCAILRRH	1801	10	11	79	
VYGVCA	1888	8	11	79	
VYGVYCAILR	1888	11	11	79	
VYGTIDR	517	0	12	86	
WAGWLLSPH	83	8	12	86	
WAKIHWNF	1766	8	12	86	
WAKQYHPFLY	76	11	12	86	
WADMLMTH	2073	9	12	86	
WAMELMTHF	2873	10	12	86	
WADMLMTHF	2873	11	12	86	

(表XIVの続き)

HCY A03 モチーフ (結合情報を含む)

【0380】

【表18】

配列	位置	アミノ酸の数	配列頻度	保存率 (%)	A'0301
WGPTDPRR	107	9	12	86	
WGPTDPRR	107	9	12	86	
WGPTDPRR	107	11	12	86	
WLSPRGSR	96	9	12	86	0.0008
WNNRLIAF	1920	8	14	100	
WNNRLIAF	1920	8	14	100	0.0003
WNNRLIAFASR	1920	11	14	100	
WNNSTGFTK	557	9	11	79	0.0530
WNLVGGVLA	1665	9	12	86	
WNLVGGVLA	1665	10	12	86	
YATGNLPQCSF	164	11	12	00	
YDAGCAWY	1526	8	11	79	
YDNCDECH	1315	10	12	86	
YGAGVAGA	1660	11	12	86	
YGAGVAGALVA	1660	11	12	86	
YGFQTSFGQR	2644	10	11	79	
YLPFRGPR	35	9	13	93	0.0054
YLVAYQATVCA	1590	11	12	86	
YSPGENR	2930	8	11	79	
YSPGENRVA	2930	10	11	79	
YSPQQRVEF	2648	9	11	79	
YSTYQKFLA	1298	9	12	86	
WCDLQGSVF	276	10	12	86	
YGGVBR	637	0	14	100	
YVPESDAA	1930	9	12	86	
YVPESDAA	1939	10	12	86	0.0003
YVPESDAAAR	567	3	12	86	

表 XVII

HCY AII モチーフ (結合情報を含む)

配列	位置	アミノ酸の数	自己類似度	保存率 (%)	A*1101
AACWTRGER	647	10	12	86	0.0140
AARLAHGVY	147	10	11	79	
AATLGFQAY	1284	9	14	100	
AAVCTRGVAK	1187	10	11	79	
ACNWTIRGER	646	9	12	86	
ADGGCSGGAY	1306	10	11	79	
ADMPVRR	1142	8	12	86	
ADMPVRR	1142	9	11	79	
AFASRGH	1926	8	14	100	
AGALVAFK	1865	8	12	86	
AGVAGALVAFK	1892	11	12	86	
AGWLSPPR	94	8	12	86	
AGWLSPPGR	94	11	12	86	
ALSTGLH	689	8	12	86	
ALSTGLH	689	10	12	86	
ASQLSAPSLK	2208	10	11	79	0.0027
ASPRNHWSPH	1928	11	12	86	
ATLGFQAY	1265	8	14	100	
ATLGFQAYMSK	1265	11	12	86	
ATRTSR	48	8	11	79	
AVCTRGVAK	1188	9	11	79	0.0250
CAAKLRH	1903	6	13	93	
CGFADLAGY	128	9	13	93	
CGNTLQY	2742	6	11	79	
CGSDLVLTIR	1120	11	11	79	
CLPRLGVPLR	2841	11	12	86	
CNCSTPGH	304	9	11	79	
CNWTIRGT	649	0	12	66	
CSSHWVAH	2818	9	12	86	
CTGSSDLY	1128	8	13	79	0.0063
CTHHSSTGFK	555	11	11	79	0.7500
CXCPKGR	2599	9	11	79	0.0005
CXCPKGRK	2598	10	11	79	0.0008
DAFLSQTK	1574	0	14	100	0.0005
DGCSGGAY	1307	9	11	79	
DHDECH	1316	9	12	86	
DLGWRQEK	2817	9	13	93	0.0002
DLVLTIR	1134	8	12	86	
ENPVRIR	1143	8	11	79	
ECHDAGCAWY	1524	10	11	79	
EGAYQWAPR	1815	9	14	100	0.0014
EMGNITR	2245	8	12	86	
EVFCVQTEK	2528	9	12	86	0.0270
FQCPKGR	2588	10	11	79	
FQCPKGRK	2588	11	11	79	

(表XIVの続き)

## HCV AIIモチーフ(結合情報も含む)

自己列	位置	アミノ酸の数	配列頻度	保存率 (%)	A・I・I・O・I
FGAYASKAH	1269	9	12	86	
FGYCAQDNR	2554	9	12	86	0.0005
FLILADAR	728	8	14	100	
FTEAMTRY	2782	8	14	100	
FTGLTHDWH	1567	10	13	93	
GAAPALAH	146	8	11	79	
GAAPALAHGR	146	11	11	78	
GAQNMR	1916	8	14	100	
GAYMSKAH	1270	8	12	86	
GFADLMGT	129	8	13	93	
GFAYMSK	1289	8	12	86	
GFAYMSKAH	1288	10	12	86	
GFQSPGGR	2845	9	11	79	
GGAPALAH	145	9	11	79	
GGCSOGAY	1308	8	11	79	
GGGNGGVY	26	10	14	100	
GGNGGVY	27	9	14	100	0.0081
GGHLEOH	1382	8	14	100	
GGHLEQSK	1382	11	14	100	
GGVLAALAAAY	1669	10	12	86	
GGVLLPR	32	8	13	93	0.0010
GGVLLPRR	32	8	13	93	
GMILPR	3037	8	11	79	
GMVCOOH	1552	8	13	93	
GLPVSAER	1004	8	11	78	
GLSAFSLH	2821	8	11	79	
GLSAFSLHST	2821	10	11	79	0.0005
GLTHCAH	1568	8	13	93	
GNHSPTH	1831	8	12	86	
GNHVSPTH	1831	9	12	86	
GNTHVESNK	2248	11	12	86	
GSSQLYVTR	1131	10	12	88	
GSSQLVAVTRH	1131	11	12	86	
GSSYGRDY	2641	8	11	79	
GTFPRAT	2003	8	11	79	1.4000
GVAGALVAPK	1653	10	12	86	
GVCTVTH	1081	8	11	79	0.0140
GVGYLPRH	3035	10	11	79	0.0110
GVLAALAAAY	1670	9	12	88	
GVRATKTSER	45	11	11	79	
GVRGEMALY	2619	11	14	100	
GVRVLDGMY	154	11	12	88	
GWCAALR	1900	9	11	78	
GWCAALRR	1900	10	11	79	
GWCAALRRH	1900	11	11	78	



(表XⅧの続き)

## HCY ALLモーター (結合情報を含む)

自己列	位置	アミノ酸の数	配列頻度	保存率 (%)	A*1101
GVYLPFRH	33	8	13	93	
GVYLPFRGR	33	11	13	93	
HAQVPVR	1141	8	11	79	
HAQVPVRR	1141	9	11	79	
HAQVPVRRR	1141	10	11	79	
HAPTSGR	1234	8	14	100	
HAPTSGRGK	1234	11	13	93	
HELAFSLH	2920	9	11	79	
HELAFSLHSY	2920	11	11	79	
HGTIRLLY	1824	0	11	79	
HGTIRLLYR	1824	0	11	79	
HDWFLSOTK	1572	11	14	100	
HLHAPTSGR	1232	10	12	86	0.0024
HLJKNVDOY	686	11	11	79	
HLFCHSK	1395	0	14	100	
HLFCHSKK	1395	9	14	100	0.0008
HANNRSGDY	1769	10	14	100	0.0002
HSTPGENR	2820	11	13	93	
HTPGVPCVR	222	10	11	79	
IAPASFGNH	1925	10	11	79	0.0012
IAWFLSOTK	1573	9	14	100	0.0003
IFCHSKK	1397	0	14	100	
IKDECH	1317	8	12	86	
ININGSWH	415	9	11	79	
ITRNESEN	2260	8	12	86	0.0079
ITTSYGR	1298	9	12	86	
IVMOYLY	701	8	11	79	
IVFOLGVR	2613	8	12	86	
MGGVYLPFR	30	9	11	79	
MGGVYLPFR	30	10	13	93	0.0044
MGGVYLPFR	30	8	13	93	0.0058
KCBELAK	1404	10	12	86	
KGYGAWDVR	2553	10	12	86	
KGGFLFCH	1381	0	11	79	
KGGVGFAR	2604	0	11	79	
KLGVPPLR	2944	5	12	86	
KNEVFOPEK	2594	11	11	79	
KSTKVPAAV	1241	9	12	86	0.0001
KTKRNTNR	10	8	12	86	
KTKRNTNFR	10	8	12	86	
KTSERSQFR	51	9	13	93	0.0100
KTSERSQFRGR	51	11	12	86	0.0840
LAQKGSAGV	1395	11	11	79	
LAQKOK	1728	9	12	86	
LDQNETADAR	1308	10	12	86	

(表XIVの続き)

## HCVA11 モチーフ (組合情報を含む)

配列	位置	7-10酸の数	配列頻度	保存率 (%)	A'1101
LFLLADAR	727	9	14	100	
LFIFSPRI	290	9	11	79	
LGFGAYMSK	1267	9	12	86	0.2900
LGFGAYMSKAH	1267	11	12	86	
LGGAARALAH	144	10	11	79	
LGVRAIRK	44	4	12	88	
LGVVRCCK	2618	4	14	100	
LHAFASGNI	1824	10	14	100	
LIEANLIWR	2238	8	12	86	0.0005
LIFCHSKK	1396	8	14	100	
LIFCHSKKK	1396	8	14	100	0.1900
LINTGSMH	414	8	11	79	
LVFFQLGR	2612	10	11	79	0.0001
LLARTAY	1030	0	14	100	
LFLLADAR	728	10	14	100	
LIFPRGPI	36	0	13	93	
LSFPRGSI	97	8	12	88	0.0002
LSAFSLHSY	2922	8	11	79	
LSNSLRH	2478	8	12	86	0.0001
LSNLLRH	2479	9	12	86	
LSTGLFHH	690	9	12	86	
LTCGFADJMGY	126	11	12	88	
LTSMLTDPFH	2178	10	13	93	
LVAYQATVCAH	1591	11	11	79	
LVOLAGY	1953	0	11	79	
MGFSYDTR	2086	0	11	79	
MGSSYGFY	2640	9	11	79	
HNLLAFASR	1921	10	14	100	
HNSTGFTK	559	8	11	79	
HNSTNPKPR	1	9	11	79	
HNSTNPKPRK	1	10	11	79	
NOGVRECR	2728	8	11	79	
NCSYVCH	305	8	11	79	
NFSGVY	1772	8	11	79	
NGVCHTYH	1000	8	14	100	
NGVCHTYH	1000	9	11	79	
NITRVESNK	2249	10	12	88	0.0002
NIWVOTLY	700	9	12	86	0.0140
NINFRPDJMK	14	11	13	93	0.0007
NITRQPMCOZH	1649	9	12	86	
PALSTGLH	688	11	12	86	
PALSTGLHH	888	8	11	79	
PCSGSWLR	1976	10	11	79	
PCTGSSLLY	1127	10	11	79	
PDLGVRCCK	2616	10	13	83	

(表XIIの続き)

HCY ALL モチーフ (結合情報を含む)

配列	位置	アミノ酸の数	配列頻度	保存率 (%)	A <sup>2</sup> 1101
PGCVPCVR	224	8	12	88	
PGGAVOMMAN	1913	11	13	83	
PGGGVGVVY	25	11	14	100	
PGLPVODH	1551	8	13	93	
PGYPMRLY	79	8	14	100	
PTYSTYCK	1295	11	11	79	
PLGGARALAH	143	11	11	79	
PMCFSTDIR	2867	3	11	79	
PNRITGVK	1281	8	13	83	
PSPWNGTIDR	514	11	13	93	
PSWXXMAWK	1507	8	11	79	
PTDCERHI	587	8	13	83	
PTDPRRSH	109	9	12	86	0.0005
PTGSKKSTK	1238	9	13	92	0.0001
PLHKPTPLLY	1621	11	11	79	
PWWGTTDR	518	9	13	93	0.0008
QMETAGAR	1340	8	12	86	
QWGVALLPR	29	11	13	93	
QLTFSPH	269	8	12	86	
QLTFSPRR	289	3	11	79	0.0330
QLSAPSLK	2210	8	11	78	
QKNDVQY	889	8	11	79	
QKNDVQVLY	888	10	11	79	
RAAVCTRGVAK	1108	11	11	79	
RALNIGVR	140	8	14	100	
RATRKTSER	47	3	11	79	
RGNHNSPTA	1930	9	12	86	0.0001
RGHNSPTHY	1930	10	12	86	0.0001
RGLFLQVR	40	8	13	93	
RGLFLGVRATK	40	11	11	79	
RHFFQPPK	59	8	13	83	0.0017
RHSLISPR	1154	8	12	86	
RLGVRATR	43	8	11	79	
RLGVRATRK	43	8	11	79	0.0290
RLHLSAPSLH	2918	11	11	79	
RLIAFASR	1923	8	14	100	
RLIAFASRGNH	1923	11	14	100	
RLVFFDQVR	2611	11	11	79	0.0270
RLILAPITAY	1029	9	12	86	
RLNYGVGSH	835	9	14	100	
RLNYGVGSHR	835	10	14	100	0.0200
RLNIFRFDQVK	13	11	11	79	
RSCFFPRRI	55	8	13	83	
RVCENKALY	2821	9	14	100	0.5000
RLLEDQVNY	156	9	12	86	5.0066

(表XIVの続き)

## HCV A11モチーフ(結合情報も含む)

配列	位置	アミノ酸の数	配列頻度	保存率 (%)	A*1101
SAFSLHSY	2823	8	11	79	
SAQSLSAPSLK	2207	11	11	79	
SCSSNWSVAH	2818	10	12	80	
SOLVLVTR	1133	8	12	86	
SDLVLTTH	1133	9	12	86	
SKSKTPAAAY	1239	11	12	86	
SNLTPSH	2178	8	14	100	
SNSLRHH	2400	8	12	86	0.0044
SSOLVLVTR	1132	9	12	86	0.0013
SSOLVLVTR	1132	10	12	86	
SNWSVAH	2820	8	12	86	
STGLRH	891	8	12	86	
STKVPAAAY	1242	8	12	86	
STNPKQRI	2	8	11	79	
STNPKPQK	2	8	11	78	
STNPKPQRTK	2	11	11	79	
SWAATLGFAY	1282	11	14	100	
TGFPADLMGY	127	10	13	93	
TGSSSLY	1129	8	11	79	
TDFFRFA	110	8	12	86	
TGEFFYGR	1375	9	11	79	
TGLTHDAH	1568	9	12	86	
TGSKSTK	1237	8	12	86	0.0001
TILGFQVMSK	1286	10	13	93	
TILGPTLLY	1822	10	11	86	0.0610
TILGPTLLYR	1822	11	11	79	0.0007
TLPALSTGLH	808	11	11	79	
TLWADMLMTH	2871	11	11	79	
TNPKPQK	3	8	11	78	
TNPKPQRTK	3	10	11	78	
TNPKPQRTKR	3	11	11	79	
TNPKPQVAK	15	8	11	79	
TSOSSNWSVAH	2817	11	12	86	
TSEKSPRI	52	6	12	93	
TSEKSPKRR	52	10	12	86	0.0001
TSEKSPKRRR	52	11	12	86	
TSLTGRK	1050	8	12	86	
TSMLTPSH	2177	9	13	93	0.0001
VAATLGFAY	1263	10	14	100	
VAGALVAFK	1664	9	12	86	0.8900
VAYGATVCAH	1592	10	11	78	0.0038
VCAALIR	1802	8	11	78	
VCAALIRH	1802	8	11	79	
VCKRMALY	2822	8	14	100	
VCTRGVAK	1189	8	11	78	

(表XIVの続き)

## HCV AILEチ-7 (結合情報を含む)

配列	位置	アノ酸の数	配列頻度	保存率 [%]	A*1101
VDPYRLWH	614	9	13	93	
VOYPLWHY	614	10	13	93	
VFOVPEK	2597	0	12	86	
VFOVPEKGR	2597	11	11	78	
VFDLGVH	2614	8	11	78	
VFTGLTHDAH	1588	11	13	93	
VGGVLAALAY	1866	11	12	86	
VGGVLLPR	31	9	13	86	0.0019
VGGVLLPR	31	10	13	93	
VGNLPR	3036	9	11	78	0.0100
VGVCAALH	1898	10	11	78	
VGVCAALR	1898	11	11	78	
VLAALAY	1871	8	12	86	
VLODAETAGH	1337	11	12	86	
VLEDGWY	157	0	12	86	
VLTSMALDPFH	2175	11	13	93	
VLDLAGY	1852	9	11	78	
VMSSTYGFQY	2839	10	11	78	
VTHADIPVR	1138	11	11	78	
VVCAALH	1901	6	11	78	
VVCAALR	1901	9	11	78	
VVCAALRRH	1801	10	11	78	
VGVVCAALH	1898	11	11	78	
VVGITDR	617	8	13	93	
WAGWLSPT	93	8	12	86	
WAGWYFWL	76	11	12	86	
WARMMLH	2873	0	12	86	
WCHTDPR	107	0	12	86	
WCHTDPRH	107	9	12	86	
WCHTDPRRH	107	11	12	86	
WLLSPGRH	86	8	12	86	0.0005
WMLHIAFSR	1920	11	14	100	0.0010
WNNSTGFTK	657	9	11	78	
WNSGQY	1771	8	14	100	
YDAGCANY	1526	8	11	78	
YDRDCEH	1315	10	12	86	
YGRVSPQR	2644	10	11	78	
YLLYTPGR	35	9	13	93	0.0005
YSTGENR	2830	0	11	78	
YGGGRH	637	0	14	100	
YVPESDAAR	1939	10	12	86	0.0001
311		3			

【0381】

【表19】

表 XVIII HCV A24 モチーフ (結合情報を含む)

自己列	位置	アミノ酸の数	自己列頻度	保存率 (%)	A*2401
AWDAAMANN	319	0	12	88	
AYAGQYKVL	1248	10	11	79	0.0000
AYTRGLDYSVI	1421	11	14	100	
CYDAGCAW	1525	0	11	79	
CYDAGCAWVEL	1525	11	11	78	
DFSLDPTF	1488	8	14	100	
DFSLDPTFI	1488	10	14	100	
FWAGHANNF	1765	9	12	86	
FWAGHANNFI	1765	10	12	88	6.0000
GFADLLGVI	129	9	13	93	
GFADLLGVIPL	129	11	11	79	
GFSTYDTRCF	2809	9	11	79	
GWELLAPI	1627	8	11	78	
GYGAGVAGAL	1059	10	12	80	0.0003
GYPLVGAPL	135	10	11	79	0.0057
GYRORASGA	2728	11	12	80	
HANNFSGI	1789	9	13	83	
IFLLALLGL	176	10	12	86	
IMANNEVF	2591	8	12	88	
INTGGGQI	23	8	13	93	
LNELGGW	1813	8	12	86	
LWARMILMTHF	2872	11	12	86	
LWDEKGGV	2241	10	12	86	
LYLYTRHADV	1136	11	11	79	
MANNFSGI	1770	0	14	100	
MANNFSGIYL	1770	11	14	100	
MVGGEMHRL	636	10	13	93	0.0270
NFESGIVL	1772	9	14	100	0.0170
PAQFSYDTRCF	2887	11	11	78	
QFQKALGL	1732	9	12	86	
QFQKALGLL	1732	10	12	88	
QWARRLAF	1918	9	14	100	
QYLGLLTL	1778	8	14	100	
QYSPQWVEF	2647	10	11	79	0.0480
QYSPQWVEFL	2647	11	11	79	0.0180
RAAWDAAMANN	317	10	12	86	
RMILMTHF	2876	0	12	86	
RMILMTHFI	2876	9	12	86	
RMVGGVHFL	835	11	13	93	
SFSIFLLAL	173	9	14	100	
SFSIFLLALL	173	10	14	100	0.0041
SMILTPSH	2178	9	14	100	
SWDMMKGL	1608	9	14	100	
SYGSGGGFL	1184	11	11	79	
TVANNSTGF	556	8	11	86	
				79	

【0382】  
【表20】

(表XIVの続き)  
HCV A24 エプー7 (結合情報を含む)

配列	位置	アミノ酸の数	配列頻度	保存率 (%)	A*2401
TWLVGGVL	1864	9	12	86	
TYSTYGKF	1297	8	13	93	
TYSTYGKFL	1297	9	12	86..	0.0230
VFTGLTH	1566	8	13	93	
VNCSSYGF	2639	8	11	79	
VYLLPRGPHL	34	11	13	93	0.0016
WNRILAF	1920	8	14	100	
YYRGLDSVI	1422	10	14	100	
53		2			

表 XIX a HCV DR スペース-7

コア自己列	コア類似度	コア保存率 (%)	例示的な自己列	HCV ポリタンパク質における位置	例示的な自己類似度	例示的な保存率 (%)
PGATNSAH	12	88	TGFGATNSAHQ	1268	5	54
PGQVWAST	12	86	AGRGCTVASTGT	559	11	39
PGKALGL	12	80	ACGKGAALGLQIA	1330	12	88
FLALLSL	12	80	SPFLALLSLCTVP	1174	8	43
PGQDAVAC	13	78	LNPTLQVNCENH	2612	13	39
PGVAILAP	13	68	PGITLQVAILAPLOS	1225	8	43
FRVACTRO	12	88	YQFRVACTROVAK	1192	7	50
FSFLALL	14	100	GLSSFLALLSL	171	12	88
FSLDHFR	14	100	YQFSLDHFRHET	1468	11	79
FTFAMTRG	14	100	YQFTFAMTRGAPP	2769	7	50
FTPSMAVA	13	72	YQFTPSMAVOTTD	609	11	93
FTLIPALST	11	72	YQFTLIPALSTGL	611	13	8
FWNRMVAF	12	81	LEFWNRMVAFMANTER	1702	8	64
KINFLEST	14	100	LHINFLESTHIDA	1579	3	21
IQNLCYTO	12	89	DSIQNLCYTOIVD	1454	7	50
IQNLQCEA	12	88	QKIQNLQCEFAULH	120	12	86
IQANLWQ	12	86	ALQANLWQVQAG	2223	7	50
ELLALLSC	14	100	SPSFELLALLSLV	173	5	43
LSQVVALD	12	85	LFHLSQVVALDQAP	1813	8	57
LSRMVQ	11	89	STLSRMVQALDQAE	1328	8	57
LSFGALVW	13	79	GMVLSFGALVQGEBA	1803	11	79
NAVTFQC	12	83	LPALLNAVTFQVQVW	1888	11	79
FLVQVRLQ	11	86	RFVAVTFQVQVCS	2084	4	53
ITVWESSRK	13	79	MOITVWESSRKQVQA	131	10	71
MFQVLDVH	14	90	EGHMFQVLDVHVMH	2287	10	71
LAALAAATCL	11	79	LELHAAALAAATCL	2812	11	79
LAQVQVQVQ	11	86	QKLAQVQVQVQVQVQ	2816	11	79
LAQLSTVQ	14	72	QKLAQLSTVQVQVQ	1682	8	57
LAQVQVQVQ	11	100	QKLAQVQVQVQVQVQ	1271	10	71
LATVTPVQS	12	79	QKLAQVQVQVQVQVQ	1844	14	100
LOPTFRET	12	88	LVMLATVTPVQSVTV	1348	19	71
LOQVETADIA	12	46	DESLQVETVETTV	1468	8	64
LEUTQSS	12	66	QVLDQVETVQVQVQVQ	1335	5	38
LEVVTITVW	13	93	EVQLLEVVTITVWVQ	2810	12	88
ELLQVQVQ	12	86	SAQLLEVVTITVWVQ	1685	13	93
LGQVQVQVQ	14	100	WALLQVQVQVQVQVQ	724	11	79
LGQVQVQVQ	12	86	FALLQVQVQVQVQVQ	1814	4	29
LGQVQVQVQ	13	93	YHLLQVQVQVQVQVQ	1379	8	57
LGQVQVQVQ	12	86	QVLDQVQVQVQVQVQ	41	9	64
LGQVQVQVQ	14	100	QVLDQVQVQVQVQVQ	2815	10	71
LGQVQVQVQ	11	79	QVLDQVQVQVQVQVQ	2916	11	79
LGQVQVQVQ	11	79	QVLDQVQVQVQVQVQ	1620	5	43
LGQVQVQVQ	11	79	QVLDQVQVQVQVQVQ	694	11	79
LGQVQVQVQ	11	79	QVLDQVQVQVQVQVQ	2814	11	79
LGQVQVQVQ	11	79	QVLDQVQVQVQVQVQ	1931	11	79
LGQVQVQVQ	11	79	QVLDQVQVQVQVQVQ	2232	12	88
LGQVQVQVQ	11	79	QVLDQVQVQVQVQVQ	1393	7	50
LGQVQVQVQ	11	79	QVLDQVQVQVQVQVQ	2812	14	100
LGQVQVQVQ	11	79	QVLDQVQVQVQVQVQ	175	93	93
LGQVQVQVQ	11	79	QVLDQVQVQVQVQVQ	713	5	38
LGQVQVQVQ	11	79	QVLDQVQVQVQVQVQ	1609	5	38
LGQVQVQVQ	11	79	QVLDQVQVQVQVQVQ	725	4	29
LGQVQVQVQ	11	79	QVLDQVQVQVQVQVQ	1684	8	64
LGQVQVQVQ	11	79	QVLDQVQVQVQVQVQ	1684	10	71



HCY DR. スーパーエチ-7

[illegible]

**【 0 3 8 3 】**

HCV DR. ス-パ-モチ-フ (総合データも含まない)

151

表 XIXb. HCY DR スーパーモーター (総合データを含む)

[illegible]

HCV DR スーパーモーター (結合デニータを含む)

[illegible]

(表XIXの続き)

[illegible]

HCV DR スパースマトリクス (結合子-タタ盒)

(表XIVの続き)

コリエン列	例示的な配列	DR1	DR2-21	DR3-22	DR4	DR5-15	DR6-11	DR7-12	DR8-19	DR9-2	DR10	DR11
VEDQVNA	QURLEEDNANVAV	0.0007			0.0016							
VLPVSAAT	KULWARSVAATLP											
VLSALLOV	DNAVLSALTPFSA											
VLTSCGNT	ASDRLTSCGNTLC											
VLVNLAQY	LQRLVLQVLAQDAG											
VLVGGVLA	STWLVGGVLAALAA											
VLUQPSVA	EDLVLUQPSVAATL											
VNLUPALS	EDLVNLUPALSPTA											
VPSDAAAR	THVPESDAAARYTO											
VSTWNLVO	LEVSTWNLVGGVL											
VWATDALMT	DVWVWATDALMTGT											
VWCAALRR	VWVWCAALRRNNO											
VGVVYCAA	DALVGVVYCAALTR											
VVLATAPP	ARLVVLATAPPQSV											
VYCPTSPV	QUPVYCPTSPVANO											
WADWLLSPV	QCDWADWLLSPGER											
WADWLLHH	FLWADWLLHHEFS											
WADWLLACG	RTWADWLLACIDEM											
WEPFEPFR	PSWEPFEPFRFSTIN											
WAKELIFA	AVWAKELIFAFASFO											
WKLALPTA	SKWKLALPTAFVANO											
WTLQALTPC	SYWTLQALTPCALE											
WYELTPAST	GCWYELTPASTETVR											
WATENLPG	QWVWATENLPGCSH											
YCFTRSPW	QWYCFTRSPWALIT											
YONGCAYTE	QCTYONGCAYTEILIP											
YMGCSG	GCWYMGCSGCELET											
YELBLISC	QPYELBLISCESNA											
YGLARVQAL	LSYGLARVQALVAF											
YEDSVYOO	QSYEDSVYOCORRE											
YGLRLATZD	YGLRLATZDCCOEN											
YALVLMPS	ACDYALVLMPSVAA											
YLAGSLIP	ECYLAGSLIPFQTP											
YKSSGQF	PSTYKSSGQFLLC											
YLLPCTTP	RYLLPCTTPTRUAT											
YKATYCARA	LYATYKATYCARACAP											
YKGLDPSN	VATYKGLDPSNPTS											
YLLQAPKE	PLTYLLQAPKEVIL											
YTCYTPSY	ACDYTCYTPSYVLT											
YSCPLDLP	QACTYSCPLDLPOR											
YTGGENRY	LYTGGENRYNASC											
YKGLCCGSV	SAWYKGLCCGSVFL											
YVGLLPMI												

【0384】

【表22】

表 XXb HCV DR 1A モチーフ (結合情報を含む)

コア配列	側鎖的な配列	D13	DR1	DR2=201	DR3=202	DR4=4	DR5=11	DR5=12	DR6=18	DR7	DR8=2	DR9	DR=53
FLACGCSQ	YKQKADGCGCGAY												
FLSDPTFI	TYQSLDTFTETI		0.0001			0.1890				0.0005			
LEGKQDQD	MYLEGKQDQDQD												
LPCEPEQD	GSQLECEPEQDAVL												
MAVMAVMAV	GFMAVMAVMAVMAVSET												
MLTQPSMT	LTSMLTQPSMTAET		0.0280	0.0015	0.0044	0.1800	0.0378	0.0000	0.0000	0.0017		0.0230	
MSADLEVYT	MACMSADLEVYTATW		0.0004			0.0740				-0.0003			
VAIDALMTQ	WVVAIDALMTQYTG	1.1000	0.0048	0.0047	0.0014		0.0006	0.0028	0.0028	0.0100	0.0029		
VCOCHLEFW	GLVPCOCHLEFWESV	0.0003											
VFDLBVTV	FLVFDLBVTVCEK												
VFTQNSPP	FSPVFTQNSPPAP												
VLEDYQAG	DSSYLEQYQAGCAW												
VLEDGNTA	DVWLEDGNTATGN	-0.0017	0.0007			0.0006				-0.0002			
VLDVLADY	LQWVLDVLADYQAG												
VOFEGGKH	WFOFEGGKHQVAT												
YDALEHTSC	QFVDALEHTSCSN												
YSEPLDLP	GACVYSEPLDLPCK		0.0003			0.0004							
YAGLCQSV	SANVYAGLCQSVTLV	-0.0017											
YTPESDAA	PTHTYTPESDAAVNT	0.0220											

19

【0385】

【表23】

表 XXc HCVJB 表 2

コア自己列	コア頻度	コア保持率 (%)	例示的な自己列	HCV ポリマー位置 質における位置	例示的な 自己列頻度	例示的な自己列 保存率 (%)
FOESKKD	14	100	ILUPKSNKCEBA	1395	14	100
FSQIRCPD	11	79	POPSHPCPSIV	2667	11	79
LAEDFQNA	12	88	GMIAQPCQKAL	1726	6	87
LQTHQPT	11	79	LPKPTLQPTPL	1816	10	71
VRATKTS	11	79	PLGWTAKTSSEQ	43	10	71
YLVTIRADY	12	86	SQLYLVTIRADYV	1133	11	78
ASTNPFOR	11	79		1		

【0386】

【表24】





表 XXI. 組み合わせたHLAスーパータイプでの集団の網羅

	表現型頻度					
HLA スーパータイプ°	白人	北米の 黒人	日本人	中国人	ラテンアメ リカ系人	平均
a. 個々のスーパータイプ°						
A2	45.8	39.0	42.4	45.9	43.0	43.2
A3	37.5	42.1	45.8	52.7	43.1	44.2
B7	38.6	52.7	48.8	35.5	47.1	44.7
A1	47.1	16.1	21.8	14.7	26.3	25.2
A24	23.9	38.9	58.6	40.1	38.3	40.0
B44	43.0	21.2	42.9	39.1	39.0	37.0
B27	28.4	26.1	13.3	13.9	35.3	23.4
B62	12.6	4.8	36.5	25.4	11.1	18.1
B58	10.0	25.1	1.6	9.0	5.9	10.3
b. 組み合わせたスーパータイプ°						
A2, A3, B7	83.0	86.1	87.5	88.4	86.3	86.2
A2, A3, B7, A24, B44, A1	99.5	98.1	100.0	99.5	99.4	99.3
A2, A3, B7, A24, B44, A1, B27, B62, B58	99.9	99.6	100.0	99.8	99.9	99.8

FIGURE 1

【0388】

【表26】

HCY 3 to 7"

AA	圖已列	國産品名	A1 モナー	A2 スーパ モナー	A3 スーパ モナー	A24 モナー	B7 スーパ モナー	1° アナー モナー
9	RVXKUALY		N	N	Y	N	N	No
9	AVXTRGVAK		N	N	Y	N	N	No
9	EVPRQPEK		N	N	Y	N	N	No
9	ELFXHSKK		N	N	Y	N	N	No
9	LPQXSF5F		N	N	Y	N	N	No
9	LF7XHSKK		N	N	Y	N	N	No
10	VLAALAA7XL		N	N	Y	N	N	No
10	ELFXHSKK		N	N	Y	N	N	No
10	AAWNTTGEH		N	N	Y	N	N	No
10	YLLPTHTPTV	LV2LV10	N	Y	Y	N	N	Rev
9	FPQCSF5F		N	N	N	N	N	No
9	LPWCSF5F		N	N	N	N	N	No
9	LPQCSF5F		N	N	N	N	N	No
9	LPQWPF5F		N	N	N	N	N	No
9	LPQCSF5F		N	N	N	N	N	No
9	LPQCSF5F		N	N	N	N	N	No
9	PPVHJCP1		N	N	N	N	N	No
10	KPTLHPTPI		N	N	N	N	N	No
10	APTILWARMH		N	N	N	N	N	No
9	SPFGSP5F		N	N	N	N	N	No
10	LPTRGP5F		N	N	N	N	N	No
9	SPQQRVER		N	N	N	N	N	No
9	LPQCSF5F		N	N	N	N	N	No
9	OPTUNISM		N	N	N	N	N	No
10	SPQALVQVH		N	N	N	N	N	No
10	TPLLYRLGAI		N	N	N	N	N	No
9	TSGVLWQV		N	Y	N	N	N	No
9	SSGVLWQV		N	Y	N	N	N	No
9	SLMAFTASV		N	Y	N	N	N	No
9	GLPQCTHLY		N	Y	N	N	N	No
10	KLVALGVNAV		N	Y	N	N	N	No
10	YLLPSRPMH		N	Y	N	N	N	No
10	KLSGLGNAY		N	Y	N	N	N	No
10	YVLPTRGP5F		N	Y	N	N	N	No
10	VFRILGSHW		N	Y	N	N	N	No
10	KLVSLGVNAV		N	Y	N	N	N	No
9	CINGVQWTA	LV2LV10	N	Y	N	N	N	Rev
9	CANKVQWTV	LV2LV9	N	Y	N	N	N	Rev



表 XXIII. 同定したスーパーモーター保有ペプチドの免疫原性

免疫原性											
ヒト					トランスジェニックマウス <sup>b</sup>						
スーパーモーター	ペプチド	配列	サブワズ	位置	Barnaba:		Chisari		全体		
					患者	接触者	患者	接触者			
A2	1073.05	LLFNILGGWV	NS4	1812	1/6	7/17	2/21	0/6	10/50	6/6	6.4 (1.7)
	1090.18	FLLADARV	NS1/E2	728	2/6	7/17	1/21	0/6	10/50	5/6	9.5 (3.0)
	1013.02	YLVAYQATV	NS4	1590	1/6	4/17	1/21	0/6	6/50	5/6	8.5 (3.7)
	1090.22	RLVFPDLGV	NS5	2578	2/6	5/17	0/21	0/6	7/50	0/6	-
	1013.1002	DLMGYIPLV	Core	132	2/6	7/17	1/21	1/6	11/50	5/6	8.8 (2.6)
	24.0073	WMNRLIAFA	NS4	1920	1/6	3/17	2/21	1/6	7/50	0/6	-
	24.0075	VLVGGVLA	NS4	1666	1/6	6/17	3/21	1/6	11/50	0/6	-
	1174.08	HMWNFISGI	NS4	1769	3/6	3/17	2/21	0/6	8/50	6/6	6.4 (1.7)
	1073.06	ILAGYGAGV	NS4	1851	2/6	3/17	0/21	0/6	5/50	3/6	54.7 (3.3)
	1073.07	YLLPRRGPRLL	CORE	35	2/6	5/17	7/21	1/6	17/50	4/6	59.1 (7.2)
	24.0071	LLFLLADA	NS1/E2	726	2/6	9/17	0/21	0/6	11/50	0/6	-
	1.0119	YLVTRHADV	NS3	1131	6/6	10/17	0/21	1/6	17/50	0/6	-
A3	1.0952	KTSESRQPR	CORE	51	2/16	1/4	3/12	0/6	6/38	3/6	23.4 (1.3)
	1073.11	RLGVRATRK	CORE	43	4/16	1/4	7/12	1/6	13/38	3/6	42.2 (1.2)
	1.0955	QLFTFSRR	ENV	290	1/16	0/4	6/12	1/6	8/38	-	-
	1073.13	RMVYGGVEHR	NS1/E2	632	5/16	1/4	4/12	1/6	11/38	2/6	2.8 (1.1)
	1.0123	LIFCHSKKK	NS3	1396	6/16	1/4	4/12	2/6	13/38	3/6	4.4 (1.1)
	1073.10	GVAGALVAFK	NS4	1863	3/16	0/4	6/12	2/6	11/38	6/6	56.5 (1.7)
	24.0090	VAGALVAFK	NS4	1864	4/16	1/4	6/12	0/4	11/38	1/6	7.1
	24.0086	TLGFGAYMSK	NS3	1262	6/16	-	2/12	2/5	10/33	-	-
	1145.12	LPGCSFSIF	CORE	169	-	-	2	3/10	5	-	-
	B7										

【0390】

【表28】

表X X I V. 精製したMHC分子およびゲル濾過クロマトグラフィーを使用して確立した、  
ヒトおよびマウスのMHC-ペプチド結合アッセイ

A. クラスI 結合アッセイ

種	抗原	樹立 遺伝子	細胞株	供給源	放射性標識ペプチド 配列	注記
ヒト	A1	A*0101	Steinlin	Hu J 鎖 102-110	YTAVPLVY	NEN 市販
	A2	A*0201	JY	HBVc 18-27 F6->Y	FLPSDYFPSV	"
	A2	A*0202	P815 (H2K1.1細胞株)	HBVc 18-27 F6->Y	FLPSDYFPSV	"
	A2	A*0203	FUN	HBVc 18-27 F6->Y	FLPSDYFPSV	"
	A2	A*0206	CLA	HBVc 18-27 F6->Y	FLPSDYFPSV	"
	A2	A*0207	721.221 (H2K1.1細胞株)	HBVc 18-27 F6->Y	FLPSDYFPSV	"
	A3		GM3107	非天然 (A3CON1)	KVFPYALINK	"
	A11		BVR	非天然 (A3CON1)	KVFPYALINK	"
	A24	A*2402	KAS116	非天然 (A24CON1)	AYIDNKNKF	"
	A31	A*3101	SPACH	非天然 (A3CON1)	KVFPYALINK	"
	A33	A*3301	LWAGS	非天然 (A3CON1)	KVFPYALINK	"
	A28/68	A*6801	CIR	HBVc 141-151 T7->Y	STLPETYVVR	"
	A28/68	A*6802	AMAI	HBV pol 646-654 C4->A	FTQAGYPAL	"
	B7	B*0702	GM3107	A2 鎖に配列 5-13 (L7->Y)	APRTLYVLL	"
	B8	B*0801	Steinlin	IV gp 586-593 Y1->E, Q5->R 60s	FLKDYQLL	"
	B27	B*2705	LG2	非天然 (B35CON2)	FRYNGLIHR	"
	B35	B*3501	CIR, BVR	非天然 (B35CON2)	FPEKYAAAF	"
	B35	B*3502	TISI	非天然 (B35CON2)	FPEKYAAAF	"
	B35	B*3503	EHM	非天然 (B35CON2)	FPEKYAAAF	"
	B44	B*4403	PITOUT	EF-1 G6->Y	AEMGKYSFY	"
	B51		KAS116	非天然 (B35CON2)	FPEKYAAAF	"
マウス	B53	B*5301	AMAI	非天然 (B35CON2)	FPEKYAAAF	"
	B54	B*5401	KT3	非天然 (B35CON2)	FPEKYAAAF	"
	Cw4	Cw*0401	CIR	非天然 (C4CON1)	QYDDAVYKLL	"
	Cw6	Cw*0602	721.221 (H2K1.1細胞株)	非天然 (C6CON1)	YRHDGQNVL	"
	Cw7	Cw*0702	721.221 (H2K1.1細胞株)	非天然 (C6CON1)	YRHDGQNVL	"
	D <sup>b</sup>		EL4	アデノウイルス EIA P7->Y	SGPSNTYPEI	"
	K <sup>b</sup>		EL4	VSV NP 52-59	RGYVFQGL	"
	D <sup>d</sup>		P815	HIV-IIIIB ENV G4->Y	RGFYRAFVTI	"
	K <sup>d</sup>		P815	非天然 (KdCON1)	KFNPMKTYI	"
	L <sup>d</sup>		P815	HBVc 28-39	IPQSLDSYWTSL	"

【0391】

【表29】

表XXXIV. 精製したMHC分子およびゲル濾過クロマトグラフィーを使用して確立した、  
ヒトおよびマウスのMHC-ペプチド結合アッセイ

B. フラスコ結合アッセイ

種	抗原	対立遺伝子	細胞株	ペプチド		注記
				供給源	配列	
ヒト	DR1	DRB1*0101	LG2	HA Y307-319	YPKYVKQNTLKLAT	最適pH: 4.5
	DR2	DRB1*1501	L466.1	MBP 88-102Y	VVHFFKNIVPTPPY	
	DR2	DRB1*1601	L242.5	非天然 (760.16)	YAAFAAAKTAATAFA	
	DR3	DRB1*0301	MAT	MT 65kD Y3-13	YKTIADFDEEAR	
	DR4w4	DRB1*0401	Preiss	非天然 (717.01)	YARFQSQTTLKQKT	
	DR4w10	DRB1*0402	YAR	非天然 (717.10)	YARFQRQTTLKAAA	
	DR4w14	DRB1*0404	BIN 40	非天然 (717.01)	YARFQSQTTLKQKT	
	DR4w15	DRB1*0405	KT3	非天然 (717.01)	YARFQSQTTLKQKT	
	DR7	DRB1*0701	Pitout	Tet. tox. 830-843	QYIKANSKFIGITE	
	DR8	DRB1*0802	OLL	Tet. tox. 830-843	QYIKANSKFIGITE	
	DR8	DRB1*0803	LUY	Tet. tox. 830-843	QYIKANSKFIGITE	
	DR9	DRB1*0901	HID	Tet. tox. 830-843	QYIKANSKFIGITE	
	DR11	DRB1*1101	Sweig	Tet. tox. 830-843	QYIKANSKFIGITE	
	DR12	DRB1*1201	Herluf	溶出した未知のペプチド	EALIHQLKINPYVLS	最適pH: 5.0
	DR13	DRB1*1302	H0301	Tet. tox. 830-843 S>A	QYIKANAKFIGITE	
	DR31	DRB5*0101	GM3107又はL416.3	Tet. tox. 830-843	QYIKANAKFIGITE	
	DR51	DRB5*0201	L255.1	HA 307-319	PKYVKQNTLKLAT	
	DR52	DRB3*0101	MAT	Tet. tox. 1272-1284	NGQIGNDPNRDIL	
	DR53	DRB4*0101	L257.6	非天然 (717.01)	YARFQSQTTLKQKT	
	DQ3.1	DQA1*0301/DQB1*0301	PF	非天然 (ROIV)	YAHAAHAAHAAHAAHAA	
	IA <sup>b</sup>		DB27.4	非天然 (ROIV)	YAHAAHAAHAAHAAHAA	
	IA <sup>d</sup>		A20	非天然 (ROIV)	YAHAAHAAHAAHAAHAA	
	IA <sup>e</sup>		CH-12	HEL 46-61	YNTDGSTDYGILQNSR	
マウス	IA <sup>a</sup>		LS102.9	非天然 (ROIV)	YAHAAHAAHAAHAAHAA	最適pH: 5.0
	IA <sup>a</sup>		91.7	非天然 (ROIV)	YAHAAHAAHAAHAAHAA	
	IE <sup>d</sup>		A20	スレアラック 12-26	YLEDARRKKAIYEKKK	
	IE <sup>e</sup>		CH-12	スレアラック 12-26	YLEDARRKKAIYEKKK	

【0392】

【表30】

表 XXV. MHC精製において使用される  
モノクローナル抗体

モノクローナル抗体	特異性
W6/32	HLAクラス I
B123.2	HLA-B*57:C
IVD12	HLA-DQ
LB3.1	HLA-DR
M1/42	H-2クラス I
28-14-8S	H-2 D <sup>b</sup> *57:L <sup>d</sup>
34-5-8S	H-2 D <sup>d</sup>
B8-24-3	H-2 K <sup>b</sup>
SF1-1.1.1	H-2 K <sup>d</sup>
Y-3	H-2 K <sup>b</sup>
10.3.6	H-2 IA <sup>k</sup>
14.4.4	H-2 IE <sup>d</sup> , IE <sup>k</sup>
MKD6	H-2 IA <sup>d</sup>
Y3JP	H-2 IA <sup>b</sup> , IA <sup>s</sup> , IA <sup>u</sup>

【0393】

【表31】



表 XXVI: HCV 由来の 保存された高アミノ酸リジウム A\*0201 結合ペプチド

ペプチド	分子	第1の位置	配列	保存率	A2スーパーサイト結合能力 (IC50 nM)			
					A*0201	A*0202	A*0203	A*0206
1073.05	NS4	1812	LLFNILGGVV	85	4.2	113	3.2	19
1090.18	NS1/E2	728	FLLLADARV	92	18	90	149	247
1013.02	NS4	1590	YLVAYQATV	85	20	39	16	82
1090.22	NS5	2611	RLVFPDLGV	79	56	391	10	370
1013.1002	CORE	132	DLMGYIPLV	79	80	4778	204	481
24.0073	NS4	1920	WMNRLIAFA	100	122	130	3.3	1609
24.0075	NS4	1666	VLVGGVLA	85	185	331	32	308
1174.08	NS4	1769	HMWNFISGI	92	15	10750	77	132
1073.06	NS4	1851	ILAGYGAGV	79	116	143	5.0	755
1073.07	CORE	35	YLLPRRGPR	92	125	6143	455	416
24.0071	NS1/E2	726	LLFLLLADA	100	217	287	455	3364
1.0119	LORF	1131	YLVTRHADV	85	455	2048	3.6	71
24.0065	NS4	1891	ILSPGALVV	92	238	10750	27	1028
1013.12	NS1/E2	686	ALSTGLIHL	85	313	7167	45	18500
939.14	NS1/E2	696	HLHQNVVDV	85	500	3071	19	1370
1090.21	NS5	2918	RLHGLSAFSL	79	179	782	625	18500

【0394】

【表32】

表 XXVII: HCV 由来の保存された高アルゴリズム A\*03 および/または A\*11 結合ペプチド

ペプチド	分子	第1の位置	配列	保存率	A3スーパータイプ結合能力 (IC50 nM)					
					A*03	A*11	A*3101	A*3301	A*6801 A3 XRN	
1.0952	CORE	51	KTSESRQPR	92	69	94	67	1813	145	4
1073.11	CORE	43	RLGVRATRK	79	12	207	429	-	-	3
1.0955	ENV1	290	QLFTFSRR	79	15	182	621	3766	3	3
1073.13	NS1/E2	632	RMVVGVEHR	100	15	300	95	9667	1778	3
1.0123	NS3	1396	LIFCHSKKK	100	20	32	2535	24167	333	3
1073.10	NS4	1863	GVAGALVAFK	85	28	4	3273	26364	118	3
24.0090	NS4	1864	VAGALVAFK	85	46	7	3750	11600	258	3
24.0086	NS3	1262	LGFGAYMSK	85	136	21	2950	22308	222	3
1174.16	NS1/E2	557	WMNSTGFTK	79	208	74	12857	690	1429	2
1073.14	NS3	1261	TLGFGAYMSK	85	136	98	-	22308	8889	2
1090.23	LORF	1183	AVCTRGVAK	79	423	240	16364	-	-	2
1090.24	NS5	2596	EVFCVQPEK	85	13750	222	-	-	18	2
24.0103	NS1/E2	647	AACNWTGGER	85	36667	429	400	5273	4444	2
1073.16	NS3	1232	HLHAPTSGSK	85	19	2500	-	-	2857	1
1073.12	NS3	1395	HLIFCHSKKK	100	423	-	20000	-	-	1
1090.26	NS3	1395	HLIFCHSKKK	100	440	10000	-	-	8000	1

\*  $T_{1/2}$  は、IC50nM > 30,000 を表す。

【0395】

【表33】

表 XXVIII: HCV由来の保存された B\*0702 結合ペプチド

## A. 高い保存率の9マーおよび10マーのペプチド

ペプチド	分子	第1の位置	配列	保存率	B7スバー-947°結合能力 (IC50 nM)						B7 XRN
					B*0702	B*3501	B*51	B*3301	B*5401	B*5401	
1145.12	Core	169	LPGCSFSIF	92	28	90	100	114	6667	4	4
15.0048	E2	681	LPALSTGLI	85	157	-	2.8	1500	20000	2	2
15.0234	NS3	1620	KPTLHGPTPL	79	3.9	-	27500	-	-	1	1
15.0247	NS5	2835	APTLWARMIL	79	6.3	-	5500	-	-	1	1
15.0042	CORE	99	SPRGSRPSW	79	14	-	11000	-	-	1	1
15.0039	Core	57	QPRGRQPI	92	24	-	-	-	-	1	1
15.0218	Core	37	LPRRGPRLG	92	29	-	6111	-	4000	1	1
15.0060	NS5	2615	SPGQVEFL	79	46	-	27500	-	-	1	1
15.0043	Core	111	DPRRRSRNL	85	324	-	-	-	-	1	1
15.0063	NS5	2835	APTLWARMIL	79	344	-	4583	-	-	1	1
1292.17	NS5	2317	PPVHGCPL	79	393	-	-	-	-	1	1
15.0239	NS4	1893	SPGALVVG	79	423	-	3438	-	-	1	1
15.0235	NS3	1621	TPLLYRLGAV	92	458	-	6875	-	909	1	1

【0396】

【表34】

表 XXVIII: HCV 由来の B\*0702 結合ペプチド  
B. さらなる HCV 由来の B7 スーパーモチーフペプチド

ペプチド	分子	第1の位置	配列	保存率	B7 スーパーモチーフ結合能力 (IC50 nM)				
					B*0702	B*3501	B*51	B*5301	B*5401
29.0035	NS3	1378	IPFYGKAI	92	458	-	46	-	50
29.0040	Core	37	LPRRGPRL	92	0.85	-	306	-	5000
29.0036	Core	137	IPLVGAPL	79	13	2250	79	-	2857
16.0187	NS1/E2	680	LPGCSFTTLPA	64	423	24000	9167	-	15
29.0039	Core	169	LPGCSFSI	92	500	200	932	620	6250
15.0219	Core	142	APLGGAAARAL	71	9.5	-	-	-	12500
29.0031	NS5	2869	APTLWARM	79	13	-	4583	-	4348
15.0231	NS3	1512	RPSGMFDSSV	71	153	-	-	-	-
29.0085	NS5	2474	LPINALNSL	57	220	18000	1170	-	11111
29.0037	NS5	2608	KPARLIVF	85	367	-	3235	-	16667
15.0237	NS4	1789	NPAIASLMAF	71	393	9000	5000	-	-
29.0118	NS5	2869	APTLWARMILM	79	423	-	-	-	3030
29.0042	NS4	1720	LPYIEQGM	85	423	-	1375	-	7692

C. B7 スーパーモチーフペプチドの操作されたアナログ

ペプチド	分子	第1の位置	配列	保存率	B7 スーパーモチーフ結合能力 (IC50 nM)				
					B*0702	B*3501	B*51	B*5301	B*5401
1145.12	Core	169	LPGCSFSIF	92	28	90	100	114	6667
1292.24	Core	169	LPGCSFSII		37	4364	5.3	262	1056
1145.13	Core	169	FPGCSFSIF		19	1.6	132	3.2	6.7

\* データは、IC50 nM > 30,000 を表す。

【0397】

【表35】

表 XXIX: HCV 由来の A1- および A24- モチーフ含有ペプチド

## A. A1 モチーフペプチド

ペプチド	分子	位置	配列	保存率	HLA-A*0101 結合 (IC50 nM)
13.0019	NS5	2922	LSAFSLHSY	79	31
1.0509	NS5	2921	GLSAFSLHSY	79	61
1069.62	NS3	1128	CTCGSSDLY	79	68
24.0093	NS5	2129	EVDGVRLLHY	100	167
13.0016	NS3	1241	KSTKVPAAY	85	1923
1.0125	NS3	1525	CYDAGCAWY	79	4032
24.0008	E1	206	DCSNSSIVY	85	16667
24.0094	NS5	2720	TNSKGQNCGY	100	-
24.0096	NS3	1240	GKSTKVPAAY	85	-
24.0100	NS3	1292	TGAPITYSTY	85	-
	NS3	1263	VAATLGFGAY	100	-
	NS5	2639	VMGSSYGFQY	79	-
	NS5	2640	MGSSYGFQY	79	-

ダッシュは、IC50 nM &gt; 25000 を表す。

## B. A24 モチーフペプチド

ペプチド	分子	位置	配列	保存率	HLA-A*2402 結合 (IC50 nM)
24.0092	NS4	1765	FWAKHMWNF	85	1.7
13.0075	NS4	1778	QYLAGLSTL	100	250
1073.18	NS1/E2	636	MYVGGVEHRL	92	444
13.0074	NS3	1297	TYSTYGKFL	85	522
13.0134	NS5	2647	QYSPGQRFVEF	79	667
24.0091	NS4	1772	NFISGIQYL	100	706
13.0131	Core	135	GYIPLVGAPL	79	2105
24.0108	Core	173	SFSIFLLALL	100	2927
13.0132	NS3	1248	AYAAQGYKVL	79	13333
13.0133	NS4	1859	GYGAGVAGAL	85	-
1174.08	NS4	1769	HMWNFISGI	93	-
	E1	317	RMAWDMMMWNW	85	-
	NS1/E2	635	RMVYVGGVEHRL	93	-
	NS3	1422	YYRGLDVSVI	100	-
	NS3	1468	DFSLDPTFTI	100	-
	NS3	1608	SWDQMWKCL	79	-
	NS3	1664	TWVLVGGVL	85	-
	NS4	1732	QFKQKALGL	85	-
	NS4	1732	QFKQKALGLL	85	-
	NS4	1765	FWAKHMWNFI	85	-
	NS4	1919	QWMNRLIAF	100	-
	NS5	2241	LWRQEMGGNI	85	-
	NS5	2669	GFSYDTRCF	79	-
	NS5	2875	RMILMTHFF	85	-

ダッシュは、IC50 nM &gt; 25000 を表す。

【0398】

【表36】

表 XXX: A2スーパ-タイプ交差反応性バインダーの免疫原性

ペプチド	配列	タンパク質	位置	免疫原性				
				a			b	
				患者	Barnabai; 患者 接触者	Chisari	Pape	全体
						ヒト	頻度	応答
1073.05	LLFNILGGVV	NS4	1812	1/6	7/17	2/21	0/6	10/50
1090.18	FLILLADARV	NS1/E2	728	2/6	7/17	1/21	0/6	10/50
1013.02	YLVAYQATV	NS4	1590	1/6	4/17	1/21	0/6	6/50
1090.22	RLIVFPDLGV	NS5	2578	2/6	5/17	0/21	0/6	7/50
1013.1002	DLMGYIPLV	Core	132	2/6	7/17	1/21	1/6	11/50
24.0073	WMNRLLIAFA	NS4	1920	1/6	3/17	2/21	1/6	7/50
24.0075	VLVGGVLA	NS4	1666	1/6	6/17	3/21	1/6	11/50
1174.08	HMWNFISGI	NS4	1769	3/6	3/17	2/21	0/6	8/50
1073.06	ILAGYGAGV	NS4	1851	2/6	3/17	0/21	0/6	5/50
1073.07	YLLPRRGPR	CORE	35	2/6	5/17	7/21	1/6	17/50
24.0071	LLFLLLLADA	NS1/E2	726	2/6	9/17	0/21	0/6	11/50
1.0119	YLVTRHADV	NS3	1131	6/6	10/17	0/21	1/6	17/50

- a. 示すデータは、試験した患者または接触者の総数に対する陽性の応答の数を表す。  
b. 頻度は、試験したマウスの総数に対する陽性の応答の数を表す。応答は、換散単位で測定した陽性の動物における応答の平均の大きさ（標準偏差）を示す。

【0399】

【表37】

表 XXXI: A3スーパータイプ交差反応性バインダーの免疫原性

免疫原性										
ペプチド	配列	タンパク質	位置	Barnaba Barnaba;				トランスジェニックマウス		
				患者 接触者				ヒト		
				患者	接触者	Chisari	Pape	全体	頻度	応答
1.0952	KTSESRQPR	CORE	51	2/16	1/4	3/12	0/6	6/38	3/6	23.4 (1.3)
1073.11	RLGVRATRK	CORE	43	4/16	1/4	7/12	1/6	13/38	3/6	42.2 (1.2)
1.0955	QLFTFSRR	ENV	290	1/16	0/4	6/12	1/6	8/38		
1073.13	RMVVGVEHR	NS1/E2	632	5/16	1/4	4/12	1/6	11/38	2/6	2.8 (1.1)
1.0123	LIFCHSKKK	NS3	1396	6/16	1/4	4/12	2/6	13/38	3/6	4.4 (1.1)
1073.10	GVAGALVAFK	NS4	1863	3/16	0/4	6/12	2/6	11/38	6/6	56.5 (1.7)
24.0090	VAGALVAFK	NS4	1864	4/16	1/4	6/12	0/4	11/38	1/6	7.1
24.0086	TLGFGAYMSK	NS3	1262	6/16		2/12	2/5	10/33		

a. 示すデータは、試験した患者または接触者の総数に対する陽性の応答の数を表す。

b. 頻度は、試験したマウスの総数に対する陽性の応答の数を表す。応答は、換散単位で測定した陽性の動物における応答の平均の大きさ（標準偏差）を示す。

【0400】

【表38】

表XXXII. 候補 HCV 由来の HTL エピトープ

選択基準	アミノ酸	自己列	供給源	保存率	
				全体	コア
A. DRスーパーモチーフ を保存した15マー	1283.01	QQIVGGVYLLPRRGPR	HCV Core 28	93	93
	1283.02	VYLLPRRGPRLGVR	HCV Core 34	93	93
	1283.03	GWLLSPRGSRPSWGPT	HCV Core 95	79	79
	1283.04	LGKVIDTLTCGFADL	HCV Core 119	79	86
	1283.05	IDTLTCGFADLMGYI	HCV Core 123	86	86
	1283.06	ADLMGYIPLVGAPLG	HCV Core 131	79	79
	1283.07	GVRVLEDGVRNYATGN	HCV Core 154	86	86
	1283.08	GVNYATGNLPGCSFS	HCV Core 161	79	86
	1283.09	GCSFSIFLLALLSCL	HCV Core 171	86	100
	1283.10	GHRMAWDMMMNWSPT	HCV E1 315	86	86
	1283.11	CGPVYCFPSPVVVG	HCV NS1/E2 506	93	93
	1283.12	VYCFPSPVVVGTTD	HCV NS1/E2 509	93	93
	1283.13	GNWFGCTWMNSTGFT	HCV NS1/E2 550	79	86
	1283.14	FTTLPALSTGLIHLH	HCV NS1/E2 684	79	86
	1283.17	DLYLVTTRHADVIPVR	HCV NS3 1134	79	79
	1283.18	RAAVCTRGVAKAVDF	HCV NS3 1186	79	79
	1283.20	AQGYKVLVLNPSVAA	HCV NS3 1251	79	100
	1283.21	GYKVLVLNPSVAATL	HCV NS3 1253	100	100
	1283.22	VLVLNPSVAATLGFG	HCV NS3 1256	100	100
	1283.23	GTVLDQAETAGARLV	HCV NS3 1335	86	86
	1283.24	GARLVVLATATPPGS	HCV NS3 1345	79	86
	1283.25	GRHLIFCHSKKCCDE	HCV NS3 1393	100	100
	1283.27	DSVIDCNTCVTQTVD	HCV NS3 1454	86	86
	1283.28	TVDFSLDPTFTIETT	HCV NS3 1466	79	100
	1283.30	FTGLTHIDAHFLSQT	HCV NS3 1567	93	93
	1283.31	YLVAYQATVCARAQA	HCV NS3 1591	79	93
	1283.32	KPTLHGPTFLLYRLQ	HCV NS4 1620	79	79
	1283.33	LEVVTSTWVLVGGVL	HCV NS4 1658	86	86
	1283.34	TWVLVGGVLAALAAAY	HCV NS4 1664	86	86
	1283.35	AEQFKQKALGLLQTA	HCV NS4 1730	86	86
	1283.40	PAILSPGALVVGVCVA	HCV NS4 1889	79	93
	1283.41	GALVVGVCVAAILRR	HCV NS4 1895	79	79
	1283.42	CAAILRRHVGPGECA	HCV NS4 1903	79	79
	1283.43	AVQWMNRLIAFASRG	HCV NS4 1917	100	100
	1283.44	MNRLIAFASRGNHVS	HCV NS4 1921	86	100
	1283.48	ANLLWRQEMGNITR	HCV NS5 2238	86	86
	1283.49	RQEMGNITRVESEN	HCV NS5 2243	86	86
	1283.52	ARLIVFPDLGVRVCE	HCV NS5 2610	79	79
	1283.53	FPDLGVRVCEKMALY	HCV NS5 2615	79	100
	1283.54	GVRVCEKMALYDVVS	HCV NS5 2619	79	100
	1283.56	QPEYDLELITSCSSN	HCV NS5 2808	79	93
	1283.57	LELITSCSSNVSAH	HCV NS5 2813	79	100
	1283.58	PTLWARMILMTHFFS	HCV NS5 2870	79	86
	1283.59	LHGLSAFSLHSYSPG	HCV NS5 2919	79	79
	1283.60	AFSLHSYSPGEINRV	HCV NS5 2924	79	79

【0401】

【表39】



表 XXXII. 候補 HCV 由来の HTL エピトープ

選択基準	ペプチド	配列	供給源	保存率	
				全体	コア
B. 高いアミノ酸を 保存したコア	1283.15	VVLLFLLADARVCS	HCV NS1/E2 724	29	100
	1283.16	SKGWRLAPITAYAQ	HCV NS3 1025	29	79
	1283.19	PQTFQVAHLHAPTGS	HCV NS3 1225	43	85
	1283.26	DVVVVATDALMTGYT	HCV NS3 1436	43	79
	1283.29	WESVFTGLTHIDAHF	HCV NS3 1563	43	92
	1283.45	LTSMLTDPSSHITAET	HCV NS3 2176	57	100
	1283.46	ASQLSAPSLKATCTT	HCV NS5 2208	50	79
	1283.47	DADLIEANLLWRQEM	HCV NS5 2232	50	85
	1283.50	SYTWTGALITPCAAE	HCV NS5 2456	64	79
	1283.51	TTIMAKNEVFCVQPE	HCV NS5 2589	64	85
	1283.55	GSSYGFQYSPQRVE	HCV NS5 2641	71	79
	1283.61	ASCLRKLGVPLRVW	HCV NS5 2939	50	85
C. 共同研究者	F098.03	AAYAAQGYKVLVLPNSVAAT	HCV NS3 1242-1261	71	100
	F098.04	GYKVLVLPNSVAATLGFGAY	HCV NS3 1248-1267	100	
	F098.05	GYKVLVLPNSVAAT	HCV NS3 1248-1261	100	
	F134.01	RRPQDVKEFGGGQIVGGVY	HCV Core 17-35	86	
	F134.02	DVKFPGGGQIVGGVYLLPRR	HCV Core 21-40	86	
	F134.03	GYKVLVLPNSVAATLGFGAY	HCV NS3 1253-1272	100	
	F134.04	TLHGPTLLYRLGAVONEIT	HCV NS4 1622-1641		79
	F134.05	NFISGIQYLAGLSTLPNPA	HCV NS4 1772-1791	100	
	F134.06	LLFNLGGWVAAQLAAPGAA	HCV NS4 1812-1831		86
	F134.07	GPGEQAVQWMNRLIAFASRG	HCV NS4 1912-1931	86	100
	F134.08	GEGAVQWMNRLIAFASRGNHV	HCV NS4 1914-1934	100	
	Pape 21	AIPLEVIKGGRHLIFCHSKR	HCV NS3 1379-1398	21	100
	Pape 22	GRHLIFCHSKRKDELATKL	HCV NS3 1388-1407		100
	Pape 29	SVIDCNTCVTQTVDFSLDPT	HCV NS3 1450-1469	86	
D. DR3 モチーフ	35.0102	GVRVLEDGVNYATGN	HCV 154	86	86
	35.0103	SAMYVGDLCGSVFLV	HCV 273	57	86
	35.0104	GHRMAWDMMMNWSPT	HCV 315	86	86
	35.0105	SDLYLVRHADVIPV	HCV 1133	79	86
	35.0106	VVVVATDALMTGYTG	HCV 1437	42	86
	35.0107	TVDFSLDPTFTIETT	HCV 1466	79	100
	35.0108	DSSVLCCEYDAGCAW	HCV 1518	71	93
	35.0109	GLPVCQDHLEFWESV	HCV 1552	42	86
	35.0110	GMQLAEQFKQKALGL	HCV 1726	57	86
	35.0111	PTHYVPESDAAARVT	HCV 1936	86	86
	35.0112	GSQLPCEPEPDVAVL	HCV 2162	64	86
	35.0113	LTSMLTDPSSHITAET	HCV 2176	57	100
	35.0114	MPPLEGEPDPLSD	HCV 2401	79	100
	35.0115	QPEYDLELITSCSSN	HCV 2808	79	93
	1283.25	GRHLIFCHSKKKCDE	HCV NS3 1393-1407		

【0402】

【表40】

表 XXXIII. HLA-DR スクリーニングパネル

スクリーニング パネル	抗原	対立遺伝子	代表的なアッセイ		表現型頻度				
			対立遺伝子	列名	Cauc.	Blk.	Jpn.	Chn.	Hisp.
一次	DR1	DRB1*0101-03	DRB1*0101	(DR1)	18.5	8.4	10.7	4.5	10.1
	DR4	DRB1*0401-12	DRB1*0401	(DR4w4)	23.6	6.1	40.4	21.9	29.8
	DR7	DRB1*0701-02	DRB1*0701	(DR7)	26.2	11.1	1.0	15.0	16.6
	パネル合計				59.6	24.5	49.3	38.7	51.1
二次	DR2	DRB1*1501-03	DRB1*1501	(DR2w2 B1)	19.9	14.8	30.9	22.0	15.0
	DR2	DRB5*0101	DRB5*0101	(DR2w2 B2)	-	-	-	-	-
	DR9	DRB1*0901-09012	DRB1*0901	(DR9)	3.6	4.7	24.5	19.9	6.7
	DR13	DRB1*1301-06	DRB1*1302	(DR6w19)	21.7	16.5	14.6	12.2	10.5
	パネル合計				42.0	33.9	61.0	48.9	30.5
三次	DR4	DRB1*0405	DRB1*0405	(DR4w15)	-	-	-	-	-
	DR8	DRB1*0801-5	DRB1*0802	(DR8w2)	5.5	10.9	25.0	10.7	23.3
	DR11	DRB1*1101-05	DRB1*1101	(DR5w11)	17.0	18.0	4.9	19.4	18.1
	パネル合計				22.0	27.8	29.2	29.0	39.0
四次	DR3	DRB1*0301-2	DRB1*0301	(DR3w17)	17.7	19.5	0.4	7.3	14.4
	DR12	DRB1*1201-02	DRB1*1201	(DR5w12)	2.8	5.5	13.1	17.6	5.7
	パネル合計				20.2	24.4	13.5	24.2	19.7
									20.4

【0403】

【表41】

表 XXXIV. 標的由来ペプチドのHLA-DR結合能力: DRスーパーモチーフおよび  
アルゴリズム陽性ペプチド

ペプチド	配列	供給源	結合能力 (IC50 nM)										結合はDR 対連伝子
			DR1	DR2w281	DR2w282	DR4w4	DR4w15	DR5w11	DR6w19	DR7	DR8w2	DR9	LAB
1283.21	AAAYAAQGYKVLVLPNSVAATLQFGAY	HCV NS3 1242-1267	4.5	350		5.2	567	143	5.1	89	288	54	175
1283.20	GYKVLVLPNSVAATL	HCV NS3 1253	6.0	650		7.9	224	74	5.9	833	175	375	298
F98.03	AQGYKVLVLPNSVAA	HCV NS3 1251	2.9	48	483	18	123	103	11	96	60	240	9
F98.05	AAAYAAQGYKVLVLPNSVAAT	HCV NS3 1242	1.4	39	563	7.8	141	75	3.5	126	21	266	9
F98.04	GYKVLVLPNSVAAT	HCV NS3 1248-1261	3.5	42	563	9.7	150	240	4.1	23	80	20	8
1283.44	GYKVLVLPNSVAATLQFGAY	HCV NS3 1248-1267	66	4.8		182	361	45	7.3	227	102	313	147
F134.08	GEGAVQWMNRLJAFASRGNHVS	HCV NS4 1914-1935	3.2			182	361	345		221	158	6818	6
1283.16	SKGWRLLAPITAYAQ	HCV NS3 1025	0.36	125	23	24	152	4.8		962	54	1190	8
1283.55	GSSYGFQYSPQGRVE	HCV NS5 2641	11		667	417	745	20000	19	156		68	384
1283.61	ASCLRLKLGVPPLRVW	HCV NS5 2939	5.0	16	217	6250	78	645		862	671	862	571
F134.05	NFISGHIYLAGLSTLPNPA	HCV NS4 1772	10	606	84		29				70	441	7
注: 1	IC50 > 1 μM 未定												6
注: 2	IC50 > 20 μM 未定												

【0404】

【表42】

表 XXXV. 3つの DR3モチーフ含有ペプチドの  
HLA-DR 結合能力

ペプチド	配列	供給源	DR3 結合 (IC50 nM)
35.0106	VVVVATDALMTGYTG	HCV 1437	427
35.0107	TVDFSILDPTFTIETT	HCV 1466	235
1283.25	GRHLIFCHSKKKCDE	HCV NS3 1393	ND

【0405】

【表43】

表 XXXVla: HCV 由来の CTL エピトープ候補

ペプチド	分子	第1の位置	配列	保存率	選択基準
1073.05	NS4	1812	LLFNILGGWV	85	A2ス-18-917°
1090.18	NS1/E2	728	FLLLADARV	92	A2ス-18-917°
1013.02	NS4	1590	YLVA YQATV	85	A2ス-18-917°
1090.22	NS5	2611	RLVFPDLGV	79	A2ス-18-917°
1013.1002	CORE	132	DLMGYPLV	79	A2ス-18-917°
24.0073	NS4	1920	WMNRLIAFA	100	A2ス-18-917°
24.0075	NS4	1666	VLVGGVLA	85	A2ス-18-917°
1174.08	NS4	1769	HMWNFISGI	92	A2ス-18-917°
1073.06	NS4	1851	ILAGYGAGV	79	A2ス-18-917°
1073.07	CORE	35	YLLPRRGPR	92	A2ス-18-917°
24.0071	NS1/E2	726	LLFLLADA	100	A2ス-18-917°
1.0119	LORF	1131	YLVTRHADV	85	A2ス-18-917°
1.0952	CORE	51	KTSESRQPR	92	A3ス-18-917°
1073.11	CORE	43	RLGVRATRK	79	A3ス-18-917°
1.0955	ENV1	290	QLFTFSRPR	79	A3ス-18-917°
1073.13	NS1/E2	632	RMVVGGEHR	100	A3ス-18-917°
1.0123	NS3	1396	LIFCHSKK	100	A3ス-18-917°
1073.10	NS4	1863	GVAGALVAFK	85	A3ス-18-917°
24.0090	NS4	1864	VAGALVAFK	85	A3ス-18-917°
24.0086	NS3	1262	TLGFGAYMSK	85	A3ス-18-917°
F104.01	NS5	3003	VGIYLLPNR	79	A31
1145.12	Core	169	LPGCSFSIF	92	B7ス-18-917°
29.0035	NS3	1378	IPFYGKAI	92	B7ス-18-917°
13.0019	NS5	2922	LSAFSLHSY	79	A1
1069.62	NS3	1128	CTCGSSDLY	79	A1
24.0092	NS4	1765	FWAKHWNF	85	A24

【0406】

【表44】

【0407】

【表45】

表 XXXVib: HCV 由来の HTL エピトープ候補

領域	ペプチド	モチーフ	置換列
HCV NS3 1025-1039	1283.16	DR	SKGWRL LAPITAYAQ、
HCV NS3 1242-1267	F98.03	DR	AA YAAQGYKVLNPSVAAT、
HCV NS3 1393-1407	1283.25	DR3	GRHLIFCHSKKCCDE、
HCV NS3 1437-1451	35.0106	DR3	VVVVATDALMTGYTG、
HCV NS3 1466-1480	35.0107	DR3	TVDFS LDPFTIETT、
HCV NS4 1772-1790	F134.05	DR	NFISGIQYLAGLSTLPGNPA、
HCV NS4 1914-1935	F134.08	DR	GEGAVQWMNRLIAFASRGNHV、
HCV NS5 2641-2655	1283.55	DR	GSSYGFQYSPGQRVE、
HCV NS5 2939-2953	1283.61	DR	ASCLRKLGVPPLRVW、

1. DR P1-P6 スーパーモチーフに基づいてか、または DR1-4-7 アルゴリズムの使用によって同定したペプチドを、「DR」によって示す。DR3 モチーフを使用して同定したペプチドを、「DR3」によって示す。

表 XXXVII. HCV 由来の HTL エピトープのパネルによる推定集団網羅

抗原	対立遺伝子	代表的な アッセイ	エピトープ の数 <sup>2</sup>	集団網羅(表現型頻度)				
				Cauc.	Blk.	Jpn.	Chn.	Hisp.
DR1	DRB1*0101-03	DR1	6	18.5	8.4	10.7	4.5	10.1
DR2	DRB1*1501-03	DR2w2 B1	3	19.9	14.8	30.9	22.0	15.0
DR2	DRB5*0101	DR2w2 B2	6	-	-	-	-	-
DR3	DRB1*0301-2	DR3	2	17.7	19.5	0.40	7.3	14.4
DR4	DRB1*0401-12	DR4w4	5	23.6	6.1	40.4	21.9	29.8
DR4	DRB1*0401-12	DR4w15	3	-	-	-	-	-
DR7	DRB1*0701-02	DR7	5	26.2	11.1	1.0	15.0	16.6
DR8	DRB1*0801-5	DR8w2	5	5.5	10.9	25.0	10.7	23.3
DR9	DRB1*09011,09012	DR9	3	3.6	4.7	24.5	19.9	6.7
DR11	DRB1*1101-05	DR5w11	5	17.0	18.0	4.9	19.4	18.1
DR13	DRB1*1301-06	DR6w19	2	21.7	16.5	14.6	12.2	10.5
合計 <sup>1</sup>				98.5	95.1	97.1	91.3	94.3
								95.1

1. 全ての集団の網羅を、多くの人種集団における DRX の存在を考慮するよう調節した。DRX 対立遺伝子により表される特異性の範囲は、以前に特徴付けられた HLA-D R 対立遺伝子の特異性の範囲を反映することとを仮定した。各モチーフに組み込まれた DRX の割合は、その集団の残りにおけるモチーフの頻度の代表である。網羅の合計は、未知の遺伝子型を考慮するよう調節されていない。

2. エピトープの数は、表 6 に示す エピトープのみを考慮して、最小の推定を表す。内包された エピトープによって恐らく結合されるさらなる対立遺伝子は、考慮されていない。

【0408】

【表46】

表 1a

スーパーモチーフ	位置	位置	位置
	2 (一次アンカー)	3 (一次アンカー)	C末端 (一次アンカー)
A1	T, I, L, V, M, S		F, W, Y
A2	V, Q, A, T		I, V, L, M, A, T
A3	V, S, M, A, T, L, I		R, K
A24	Y, F, W, I, V, L, M, T		F, I, Y, W, L, M
B7	P		V, I, L, F, M, W, Y, A
B27	R, H, K		F, Y, L, W, M, I, V, A
B58	A, T, S		F, W, Y, L, I, V, M, A
B62	Q, L, I, V, M, P		F, W, Y, M, I, V, L, A
モチーフ			
A1	T, S, M		Y
A1		D, E, A, S	Y
A2.1	V, Q, A, T*		V, L, I, M, A, T
A3.2	L, M, V, I, S, A, T, F, C, G, D		K, Y, R, H, F, A
A11	V, T, M, L, I, S, A, G, N, C, D, F		K, R, H, Y
A24	Y, F, W		F, L, I, W

\* 2がV, 斜字Qのとき、C末端はしではない。

太字の残基は好ましく、斜字の残基はさほど好ましくない：ペプチドが、上記表に特定するようなモチーフまたはスーパーモチーフのための各一次アンカー位置に一次アンカーを有する場合に、このペプチドはモチーフを保有するとみなされる。

SP (14000-1)

#### 【図面の簡単な説明】

##### 【図1】

図1は、平均集団における、HLA-AおよびB分子により結合したHCV候補エピトープの数の関数としての遺伝子型の総頻度のグラフを提供する。

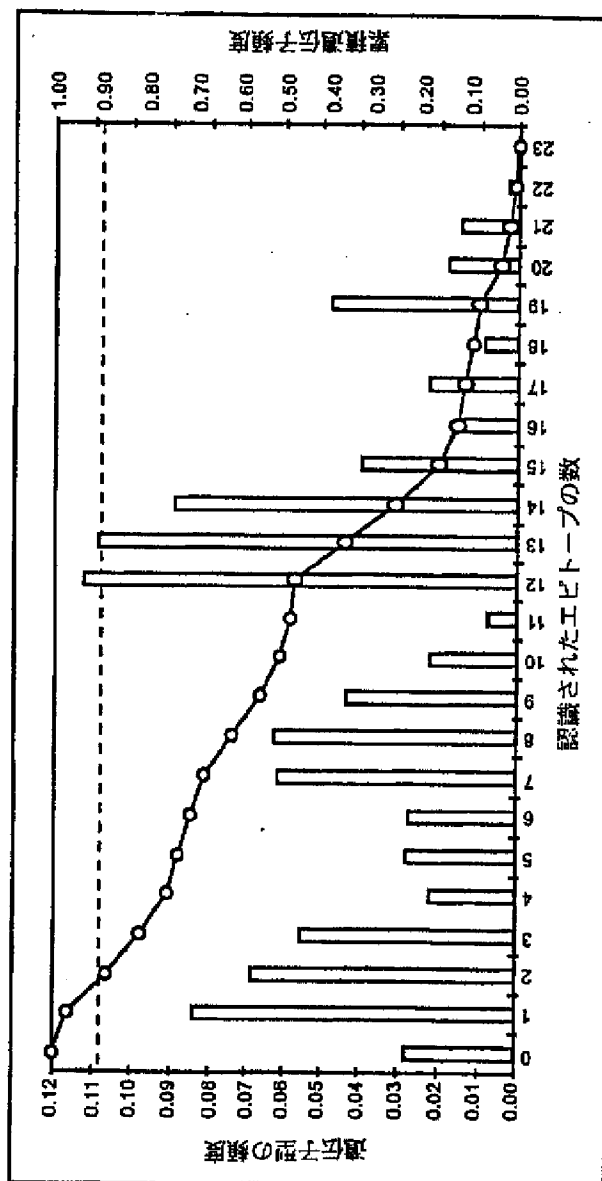
##### 【図2】

図2は、実験モデルのミニ遺伝子構築物中のペプチドエピトープの位置を示す。



【図1】

## HCV候補エピトープについてのモンテカルロ集団範囲分析



平均集団において、HLA-AおよびB対立遺伝子により結合されるHCV候補エピトープの数の関数とした遺伝子型の総頻度のプロット。遺伝子型の値は、コーカソイド、北アメリカ人、黒人、日本人、中国人およびヒスパニック系集団における遺伝子頻度を平均することにより導出された。遺伝子型の累積頻度もまた示す。

現在利用可能なHLA分類データを用くと、遺伝子の残存割合（約15%）は、平均集団において示されていない。

遺伝子の100%評価に達するために、残りの割合を、HLA特定集団内のクラスターの相対頻度に準じた各ヒット集団クラスターについて付加した。1つのペプチド（24,0086）は、今回の分析に組み込まなかった。

HCV ミニ遺伝子

CTL エピトープ

コア 43													
Kozak	SigSeq	1073.11	NS4 1590	NS3 1128	NS5 2611	コア 169	NS1/E2 632	NS4 1765	NS4 1863	コア 132			
A3		1073.11	1013.02	1069.62	1090.02	1145.12	1073.13	24.0092	1073.10	1013.10			
		A2	A1	A2	B7	A3	A24	A3	A2	A3			

NS3 1253				NS4 1921				NS5 2641				1466			
1283.21				1283.44				35.0106				1283.55			
DR				DR				DR3				DR			
												DR3			

HTL エピトープ

## 【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/US00/19774												
<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b> IPC(7) : A61K 38/00, 38/04, 38/08, 38/10, 39/29, 39/295 US CL : 514/2, 12, 13, 14, 15, 885; 424/185.1, 189.1 According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC														
<b>B. FIELDS SEARCHED</b> Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) U.S. : 514/2, 12, 13, 14, 15, 885; 424/185.1, 189.1 Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) MEDLINE, BIOSIS, EMBASE, DERWENT WPI, WEST 2.0, search terms: author names, hcv, peptid?, HLA, hfl, cd,														
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>														
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim N												
Y	WENTWORTH et al. Differences and similarities in the A2.1-restricted cytotoxic T cell repertoire in humans and human leukocyte antigen-transgenic mice. Eur. J. Immunol. 1996. Vol 26. pages 97-101, see entire document.	1-29												
Y	US 5,736,142 A (SETTE et al.) 07 April 1998, see entire document.	1-29												
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> See patent family annex.														
<table border="0"> <tr> <td>* Special categories of cited documents:</td> <td>*T* later document published after the international filing date or prior date and not in conflict with the application but cited to understate the principle or theory underlying the invention</td> </tr> <tr> <td>*A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance</td> <td>*X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone</td> </tr> <tr> <td>*E* earlier document published on or after the international filing date</td> <td>*Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document combined with one or more other such documents, such combinations being obvious to a person skilled in the art</td> </tr> <tr> <td>*L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)</td> <td>*G* document member of the same patent family</td> </tr> <tr> <td>*O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means</td> <td></td> </tr> <tr> <td>*P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed</td> <td></td> </tr> </table>			* Special categories of cited documents:	*T* later document published after the international filing date or prior date and not in conflict with the application but cited to understate the principle or theory underlying the invention	*A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	*X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone	*E* earlier document published on or after the international filing date	*Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document combined with one or more other such documents, such combinations being obvious to a person skilled in the art	*L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	*G* document member of the same patent family	*O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means		*P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	
* Special categories of cited documents:	*T* later document published after the international filing date or prior date and not in conflict with the application but cited to understate the principle or theory underlying the invention													
*A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	*X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone													
*E* earlier document published on or after the international filing date	*Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document combined with one or more other such documents, such combinations being obvious to a person skilled in the art													
*L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	*G* document member of the same patent family													
*O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means														
*P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed														
Date of the actual completion of the international search 19 SEPTEMBER 2000		Date of mailing of the international search report 17 OCT 2000												
Name and mailing address of the ISA/US Commissioner of Patents and Trademarks Box PCT Washington, D.C. 20231 Facsimile No. (703) 305-3230		Authorized officer RON SCHWADRON Telephone No. (703) 308-0196												

## フロントページの続き

(51)Int.Cl. <sup>7</sup>	識別記号	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 P 31/14		A 6 1 P 37/02	
37/02		C 0 7 K 14/18	Z N A
C 0 7 K 14/18	Z N A	A 6 1 K 37/02	
(81)指定国	EP(AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AP(GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW		
(72)発明者	サウスウッド, スコット アメリカ合衆国 カリフォルニア 92071, サンティアー, ストラスモア ドライブ 10679		
(72)発明者	リビングストン, ブライアン ディー, アメリカ合衆国 カリフォルニア 92129, サン ディエゴ, チャコ コート 13555		
(72)発明者	チェスナット, ロバート アメリカ合衆国 カリフォルニア 92007, カーディッファーバイザーシー, キン グス クロス ドライブ 1473		
(72)発明者	ベイカー, デニス マリー アメリカ合衆国 カリフォルニア 92126, サン ディエゴ, カミニト ラバー ナンバー21 11575		
(72)発明者	セリス, エステバン アメリカ合衆国 ミネソタ 55902, ロ チェスター, ライト ロード エス, ダ ブリュー, 3683		
(72)発明者	クボ, ラルフ ディー, アメリカ合衆国 カリフォルニア 92009, カールスパッド, ベアー ツリー ド ライブ 6921		

(72)発明者   グレイ,    ホワード   エム.  
              アメリカ合衆国   カリフォルニア   92037,  
              ラ   ホヤ,    カミニト   バティアー   1461  
F ターム(参考)   4C076 AA19 BB11 CC06 CC07 CC16  
                  CC35 EE59 FF11 FF68  
                  4C084 AA01 AA02 AA14 BA01 BA08  
                  BA17 BA18 BA22 BA23 CA01  
                  MA05 MA66 NA05 NA10 NA13  
                  NA14 ZA752 ZB072 ZB332  
                  4H045 AA11 BA09 BA15 BA17 CA02  
                  CA40 DA86 EA31 EA53 FA74